

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1942.

N°

THÈSE 314

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

Julien FRIBOURG-BLANC

Né le 25 Février 1917, à Paris

Présentée et soutenue publiquement le

11 NOV 1942

LA VACCINATION CONTRE LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE

par la Méthode de P. DURAND et P. GIROUD

(DÉVELOPPEMENT DES RICKETTSIES DANS LE POU MON DU LAPIN)

Président : M. LEMIERRE, Professeur

PARIS

MAURICE LAVERGNE, IMPRIMEUR

289, RUE SAINT-JACQUES, 289

1942

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

PAR

Julien FRIBOURG-BLANC

Né le 25 Février 1917, à Paris

Présentée et soutenue publiquement le _____ 19—

LA VACCINATION CONTRE LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE

par la Méthode de P. DURAND et P. GIROUD

(DÉVELOPPEMENT DES RICKETTSIES DANS LE POUMON DU LAPIN)

Président : M. LEMIERRE, Professeur

PARIS

MAURICE LAVERGNE, IMPRIMEUR

289, RUE SAINT-JACQUES, 289

1942

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	GASTINEL.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	N...
Pathologie chirurgicale	QUÉNU.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	AUBERTIN.
Hygiène et médecine préventive	TANON.
Médecine légale	DUVOIR.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LEVY-VALENSI.
Pathologie expérimentale et comparée	HENRI BENARD.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	CHIRAY.
Clinique médicale	ABRAMI.
»	FIESSINGER.
»	HARVIER.
»	PASTEUR-VALLERY-RADOT.
Hygiène et clinique de la première enfance	CATHALA.
Clinique des maladies des enfants	Robert DEBRÉ.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	LAIGNEL-LAVASTINE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
Clinique chirurgicale	CADENAT.
»	GOSSET.
»	LENORMANT.
»	MONDOR.
Clinique ophtalmologique	VELTER.
Clinique urologique	CHEVASSU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
»	
»	
Clinique gynécologique	PORTES.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	MOCQUOT.
Clinique thérapeutique médicale	LEVEUF.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LOEPER.
Clinique thérapeutique chirurgicale	LEMAITRE.
Clinique propédeutique	BROcq.
Clinique de la Tuberculose	M. VILLARET.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	TROISIER.
Clinique de cardiologie	MATHIEU.
Clinique de neuro-chirurgie	DONZELOT.
Assistance médico-sociale	Clovis VINCENT.
Professeurs sans chaire	N...
»	DOGNON.
»	GIROUD.
»	HAZARD.
»	JAYLE.
»	JOANNON.
»	OLIVIER.
»	VERNE.



II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.		MM.	
AMELINE	Pathologie chirurgic.	DE GENNES	Pathologie médicale.
BARIETY	Pathologie médicale.	LACOMME	Obstétrique.
BESANÇON (Justin) ..	Hydrologie.	LANTUEJOL	Obstétrique.
BONNET	Bactériologie.	LAVIER	Parasitologie.
BOULIN	Pathologie médicale.	LELONG	Pathologie médicale.
BROUET	Pathologie médicale.	LEMAIRE	Pathol. expérimentale
BULLIARD	Histologie.	LENEGRE	Pathologie chirurgic.
CACHERA	Pathologie médicale.	Mlle J. LÉVY.....	Pharmacologie.
CORDIER	Anatomie.	MARCHAL	Pathologie médicale.
COSTE	Pathologie médicale.	MENÉGAUX	Pathologie chirurgic.
COUVELAIRE	Urologie.	MOLLARET	Pathologie médicale.
DELARUE	Anat. pathologique.	MOUQUIN	Pathologie médicale.
DELAY	Pathologie médicale.	PATEL	Pathologie chirurgic.
DESGREZ (H.)	Physique.	PETIT-DUTAILLIS ...	Pathologie chirurgic.
DESOLLE	Médecine légale.	RENARD	Ophthalmologie.
DIGONNET	Obstétrique.	RICHET	Physiologie.
DOGNON	Physique.	SENEQUE	Pathologie chirurgic.
FEVRE	Pathologie chirurgic.	SICARD	Pathologie chirurgic.
FUNCK	Pathologie chirurgic.	SOULIE	Pathologie médicale.
GALLIARD	Parasitologie.	SUREAU	Obstétrique.
GARCIN	Pathologie médicale.	TURPIN	Pathologie médicale.
M ^{lle} GAUTHIER-VILLARS	Anat. pathologique.	WILMOTH	Pathologie chirurgic.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.		MM.	
ALGLAVE	Pathologie chirurgic.	LE LORIER	Obstétrique.
CHAILLEY-BERT	Physiologie.	NEVEU-LEMAIRE	Parasitologie.
GUÉNIOT	Obstétrique.	PIEDELIEVRE	Médecine légale.
HEITZ-BOYER	Pathologie chirurgic.	VAUDESCAL	Obstétrique.
HUGUENIN	Anat. pathologique.		

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

MM.		MM.	
ALAJOUANINE	} Clinique Médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale.
BRULÉ		GATELLIER	
CHABROL		DE GAUDART D'ALLAINES	
CHEVALLIER		MOULONGUET	
LAROCHE (Guy)		MOURE	
LIAN			
MOREAU		ECALLE	Clinique Obstétricale.
SÉZARY		VIGNES	Clinique Obstétricale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé..	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
DECHAUME	Stomatologie.
N... ..	Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE
DE MES FRÈRES ET SOEURS DISPARUS

A MA FEMME ET A MA FILLE

Sans elles, ma vie deviendrait inutile.

A MA MÈRE

Son courage, sa tendresse, et son abnégation furent sans limites.

A MON PÈRE

LE MÉDECIN-GÉNÉRAL FRIBOURG-BLANC

Professeur du Val-de-Grâce
Commandeur de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre 1914-1918 et 1939-1940

Sa vie, entièrement consacrée au service de la France, de la Science et de sa Famille, sera toujours pour nous un incomparable exemple dont nous voulons être digne.

A MON FRÈRE ET A MES SOEURS

A MON COUSIN

LE DOCTEUR JEAN GAY

Dès le début de nos études, il nous a prodigué les conseils et les encouragements les plus précieux. Qu'il soit assuré de toute notre affection.

A TOUS LES MIENS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
M. LE PROFESSEUR A. LEMIERRE
Membre de l'Académie de Médecine

Il s'est fait, dès le début, l'apôtre de cette vaccination contre le typhus. Avec un inlassable dévouement, il a mis ensuite sa haute compétence au service de nos Prisonniers.

Nous le remercions très vivement du grand honneur qu'il nous a fait de vouloir bien accepter la présidence de cette thèse.

A MES JUGES

A M. LE MÉDECIN-GÉNÉRAL M. GAUTHIER

Professeur agrégé du Val-de-Grâce

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre profonde gratitude et de notre
respectueuse affection.*

A M. LE DOCTEUR P. GIROUD

Chef de Service à l'Institut Pasteur

*Cette thèse est le fruit de ses recherches.
Il a bien voulu nous guider de ses con-
seils toujours pleins d'indulgente bien-
veillance.*

*Qu'il soit assuré de notre grande recon-
naissance et de notre profond respect.*

A MES MAÎTRES DES HÔPITAUX MILITAIRES

A MES MAITRES

Externat :

M. LE PROFESSEUR J. PATEL

M. LE DOCTEUR LAGÈZE

Institut Pasteur :

M. LE DOCTEUR R. MARTIN

Médecin-Chef de l'Hôpital de l'Institut Pasteur

*En hommage de notre reconnaissance
pour son accueil si bienveillant et son
enseignement clinique.*

M. J. TRÉFOUËL

Directeur de l'Institut Pasteur
Membre de l'Académie de Médecine

M. LE DOCTEUR DUJARRIC DE LA RIVIÈRE

Chef de Service à l'Institut Pasteur

M. LE DOCTEUR CHEVÉ

A LA MÉMOIRE DE MES CAMARADES DE L'ÉCOLE
DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE
ET DU 21^e RÉGIMENT DE TIRAILLEURS ALGÉRIENS
MORTS POUR LA PATRIE

AVANT-PROPOS

Kelsch a pu dire avec raison que dans l'histoire « le typhus s'attache aux pas du vainqueur comme à ceux du vaincu. Triomphantes ou en fuite, les armées le portent avec elles et le sèment au milieu des populations sur leur parcours ».

Cette redoutable maladie, devant laquelle la science médicale était naguère encore si désarmée, trouve en effet dans le froid, la promiscuité, la saleté et la fatigue autant de dangereux auxiliaires. Sa mortalité est redoutable, en particulier pour la race blanche.

Au cours de la campagne de Russie en 1813, sur 30.000 prisonniers à Vilno, 25.000 moururent du typhus. Il s'abattit encore sur nos armées durant la campagne de Crimée, tuant 80 médecins et 643 infirmiers sur 840 malades.

En 1914-1918, le typhus frappe encore durement les armées roumaines, serbes et turques, et fait de nombreuses victimes parmi nos prisonniers. En 1920, 2 à 3 millions de Russes sont encore décimés (1).

A la faveur du grand brassage de populations créé par la guerre, nous voyons à nouveau le typhus se répandre sur le monde.

A l'heure actuelle, le typhus fait en Afrique du Nord de redoutables progrès depuis 1937, malgré les efforts faits pour l'enrayer, et déjà on déplore des victimes parmi nos prisonniers en Allemagne.

Dans la lutte contre le typhus, nous disposons, par l'épouillage et l'isolement, depuis les premières découvertes de Ch. Nicolle, d'une arme puissante, mais coûteuse et souvent bien difficile à appliquer.

C'est pourquoi, connaissant la longue immunité conférée par le typhus à la suite d'une première atteinte, d'innombrables chercheurs se sont efforcés de mettre au point une méthode de vaccination à la fois inoffensive, efficace et si possible susceptible d'un grand rendement.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE DE L'IMMUNISATION

1. — IMMUNISATION PASSIVE

En matière de typhus, comme pour tant d'autres maladies infectieuses conférant à leur suite une longue immunité, il était opportun d'expérimenter les propriétés virulicides du sérum des malades convalescents ou des animaux immunisés.

SÉRUM DE CONVALESCENTS

Après les premiers essais de Legrain (2), puis de Raynaud (3), de Ch. Nicolle et E. Conseil (4), Weil et Breinl (1923) (5) montrent la valeur préventive du sérum des malades convalescents et l'atténuation qu'il apporte dans la gravité de la maladie.

P. Durand (3) l'injectant par voie intra-rachidienne aurait obtenu de meilleurs résultats thérapeutiques (1932).

Mais Mosing estime que le sérum des sujets vaccinés par la méthode de Weigl provoque moins

d'accidents et s'élimine moins rapidement que le sérum de convalescents.

SÉRUMS D'ANIMAUX

Le sérum de convalescents n'ayant que des résultats thérapeutiques minimes et étant, de plus, difficile à se procurer en début d'épidémie, on a essayé les sérums d'animaux immunisés expérimentalement. Nicolle et Blaizot (1916), par inoculation de virus typhique historique par voie intra-veineuse à l'âne ou au cheval, obtiennent un sérum protecteur dont l'efficacité est certaine mais ne se maintient pas chez l'animal utilisé (7).

De nouveaux essais de Nicolle et Conseil (1925) (8), puis de Blanc et Martin avec le virus murin ne permettent également d'obtenir qu'un sérum perdant rapidement ses propriétés après chute de la courbe fébrile de l'animal.

Mosing, par l'inoculation d'intestin de pou à la brebis, obtient un sérum qui, injecté à la dose de 20 à 30 cc., donne de bons résultats préventifs et une atténuation des symptômes de la maladie.

Zinsser et Ruiz Castañeda (1933) (9) obtiennent de bons résultats avec leur sérum de cheval hyperimmunisé au typhus mexicain, ainsi que le montrent les travaux de Bustamente, Varela et Bosque-Pichardo (1934) (10), de Bustamente, Varela et Neri (1935) (11), et l'étude expérimentale de Paul Giroud (1935) (12).

Enfin, Paul Durand et Balozet (1940) (13), à l'Institut Pasteur de Tunis, préparent un sérum antityphique par inoculations répétées pendant plusieurs mois au cheval ou à l'âne, par voie sous-cutanée et même intraveineuse, de doses massives de poumons de souris infectées de virus historique par voie respiratoire, et sacrifiées peu avant la mort. Les réactions produites chez ces animaux sont considérables. Leur sérum a une valeur préventive indiscutable, et les effets thérapeutiques expérimentés par les auteurs à l'Hôpital Conseil à Tunis, semblent dignes du plus grand intérêt.

II. — IMMUNISATION ACTIVE

Nous ne pouvions, sans nous éloigner du thème de ce travail, nous étendre plus longuement sur les recherches relatives à l'immunisation passive contre le typhus. Au surplus, indépendamment du grand intérêt au point de vue thérapeutique de l'étude de tous ces sérums, il n'en reste pas moins vrai que leur valeur préventive s'avère très fugace et ne dure guère plus de quelques semaines.

C'est pourquoi de très nombreux chercheurs se sont efforcés d'obtenir directement chez l'homme une immunité certaine et de longue durée par une méthode à la fois sûre et inoffensive. Les travaux à ce sujet sont si nombreux que, sans même nous arrêter à toutes les méthodes qui ne présentent plus

maintenant qu'un intérêt historique, nous ne pouvons que rappeler ici les méthodes de vaccination réellement appliquées à l'homme, ou susceptibles de l'être.

VACCINS VIVANTS.

Ch. Nicolle, H. Sparrow et leurs collaborateurs (14) sont d'abord parvenus à obtenir une immunité certaine contre le typhus par inoculation aux animaux de laboratoire et à l'homme de virus murin 1 de Tunis, et même de virus historique prélevés sur les animaux de passage ou sur le pou, et inoculés à doses massives par voie oculaire, nasale, digestive ou intradermique. Ils montrent surtout ainsi l'importance de la voie d'introduction dans la détermination de la maladie expérimentale. Leurs expériences prouvent de plus que ces virus purs, et non modifiés, sont soumis au cours des passages à des variations de virulence si considérables, que ces méthodes sont à la fois incertaines et dangereuses. Ch. Nicolle, Sparrow et Conseil (1927) (14 bis) inoculent à plusieurs reprises un broyat de cerveaux de cobayes infectés de typhus épidémique. L'essai pratiqué sur 10 enfants donne le typhus à 6 d'entre eux. Une telle méthode présente aussi un danger pour la collectivité. Ramsine (1929) (15) a montré en effet que le sang de malades inapparents peut infecter le cobaye. Ces porteurs sains seraient susceptibles d'allumer un foyer de typhus. C'est pourquoi on chercha

à obtenir une maladaie inapparente par inoculation d'un virus murin moins dangereux que le virus historique, qui, sans déterminer de réactions appréciables, laisse à sa suite une immunité suffisante.

MÉTHODE DE G. BLANC

G. Blanc, à l'Institut Pasteur du Maroc, montre, avec Noury et Baltazard (1935) (16), le faible pouvoir pathogène pour l'homme du virus de Casablanca et l'immunité qu'il crée vis-à-vis des autres virus murins et du virus historique lui-même. Comme le virus de la dengue étudié par G. Blanc et Caminopetros, le virus murin est atténué par la bile et non tué. Blanc prouve en outre que sa souche conserve sa faible virulence au cours des passages, et qu'elle ne crée pas de porteurs sains capables d'infecter le pou.

Technique de préparation (17)

Au 6^e jour suivant l'inoculation virulente, le cobaye mâle présentant une vaginalite fébrile est sacrifié. Les vaginales, les surrénales et la rate sont prélevées aseptiquement et broyées à sec dans 1.000 cc. le plus souvent, 2.000 ou 3.000 cc. d'eau physiologique stérile. Au moment de l'emploi, on ajoute au liquide filtré ainsi obtenu 5 % de bile précipitée par séjour de 30 minutes à l'autoclave à 120°, et stérilisée 20 minutes à 110°. On laisse en contact

exactement 15 minutes. L'injection se fait dans la masse du muscle deltoïde à la dose de 1 cc.

Réactions vaccinales

Laurens, Fort et Bernier (1939) (18) les étudient très minutieusement parmi les troupes vaccinées à Casablanca au cours de l'épidémie de 1937-1938. Ils notent chez l'indigène une proportion de 1,22 % de réactions, ayant nécessité une mise en observation à l'hôpital, mais inégalement réparties entre les différents lots de vaccinés, prouvant ainsi que le virus n'est pas constant.

L'injection vaccinale ne cause aucune douleur locale, et la température reste normale. Quand la réaction se produit, elle apparaît du 9^e au 13^e jour en général ; elle est caractérisée par un réveil douloureux du point d'injection, suivi d'un typhus murin généralement atténué, d'une durée de 10 à 12 jours. Le sang des malades infecte les animaux d'épreuve. On note parfois des cas graves avec température oscillante s'élevant au-dessus de 40°, délire, exanthème papuleux intense et albuminurie. Chez l'Européen, les réactions sont particulièrement sévères et s'observent dans 30 % des cas.

Efficacité

Grâce à cette méthode pratiquée sur une très large échelle (1.242.825 vaccinations de Juin 1934 à Décembre 1938), on a pu noter un arrêt brusque de la marche de l'épidémie dans les foyers vaccinés,

tel le succès obtenu en 1935 à Petitjean (19). Les cas de typhus à Casablanca et Marrakech furent moins nombreux en 1939 qu'en 1938, alors que l'épidémie continuait dans les foyers non vaccinés. A Marrakech, sur 2.000 vaccinés, on observe 22 cas de typhus murin, et 9 cas de typhus historique dont 2 décès. A Casablanca, sur 1.949 vaccinés, on observe 24 typhus murins, et 3 cas de typhus historique dont 1 décès.

MÉTHODE DE BLANC ET BALTAZARD

La méthode précédente comportait des risques en particulier pour la population de souche européenne, risques qui sont dus à l'instabilité du virus employé, et à ce qu'il n'est pas dosable. De plus, elle a des inconvénients d'ordre technique : nécessité de préparer extemporanément le vaccin, donc l'obligation de recourir à des équipes de vaccinateurs spécialisés. De plus, ce vaccin ne peut être stocké.

Le virus typhique se conservant longtemps à sec, surtout en dehors de l'organisme infecté et particulièrement dans les crottes de puces où Dyer (1932) révèle sa présence (20), c'est ce matériel que Blanc et Baltazard (1936) utilisent dans leur technique (21).

Technique de préparation (22)

Dans une cuve contenant 50.000 *Xenopsylla Cheopis*, on met 2 rats blancs infectés avec le virus

murin TMC III 48 heures auparavant, et on les remplace de 2 en 2 jours par de nouveaux rats infectés. A partir du 15^e jour, les puces étant suffisamment infectées, les rats, après un séjour de 48 heures dans la cuve sont sacrifiés et épilés ; les poils sont desséchés et tamisés sur des soies à bluter, pour recueillir les crottes des puces. Après 30 à 40 récoltes, on supprime la cuve qui s'appauvrit en puces. On peut recueillir ainsi 10 grammes de crottes de puces par cuve. Le produit de la récolte est réparti en ampoules, desséché dans le vide à 1/100 de mm. de mercure en présence de chlorure de calcium. Ce vaccin peut être stocké.

Lors de la vaccination, on dilue une ampoule de 1 mgr. de virus sec dans 100 cc. de solution biliée tamponnée à pH = 7,4. Le vaccin ainsi préparé est utilisable plusieurs heures. Il est injecté comme le précédent dans le muscle deltoïde à la dose de 1 cc.

Application de la méthode (23)

D'après les auteurs, sur 183.927 personnes (dont 37.848 militaires) vaccinés pendant le premier semestre de l'année 1939, on n'observa que 5 réactions vaccinales. On n'a pas noté de réaction locale ni générale chez les 30 Européens vaccinés.

Efficacité

Les auteurs pratiquent des inoculations d'épreuve de virus historique dans un pénitencier indigène

jamais vacciné antérieurement ; ils observent que 60 % des vaccinés au moins résistent à l'épreuve, en mettant au passif de la méthode toutes les réactions fébriles même les plus frustes.

MÉTHODE DE NICOLLE ET LAIGRET

Le principe de la méthode est le même que pour le vaccin de Blanc : créer par un virus murin atténué, une maladie inapparente qui laisse ensuite une immunité importante (24).

Technique de préparation du vaccin (25)

La souche de virus murin TuP 1 de H. Sparrow est entretenue sur le rat par passages successifs cerveau-péritoine. Le rat est sacrifié le 2^e jour de fièvre.

Le cerveau, prélevé aseptiquement, essoré dans un buvard stérile, est broyé dans 2,50 gr. d'un mélange de 100 gr. de phosphate disodique et de 15 gr. de phosphate monopotassique ; puis desséché dans le vide à + 5° en présence de Cl^2Ca . Cette poudre-mère conserve sa virulence 2 mois à — 15°. Au début et à la fin de ces opérations, on s'assure de la stérilité et de la virulence du matériel employé.

L'atténuation de la virulence est obtenue par « enrobage » dans le jaune d'œuf : on triture 2,50 gr. de poudre de cerveau phosphaté avec 8 cc. de jaune d'œuf stérile. Le mélange est desséché à + 5° par exposition 24 heures dans le vide en présence de

Cl^2Ca , puis il est broyé et tamisé, enfin réparti en ampoules scellées dans le vide à raison de 5 cgr. par ampoule, après un dernier contrôle de stérilité.

Le contenu d'une ampoule correspond à $1/200$ de cerveau de rat. On peut encore présenter le vaccin sous forme de comprimés de 20 doses.

Au moment de l'emploi on broie la poudre dans un mortier stérile en présence d'huile d'olive stérilisée et lavée à l'alcool, à raison de 1 cc. pour une dose ; ce vaccin pourrait être conservé au moins un mois à -15° , ou 48 heures à la température ordinaire.

Application de la méthode

Laigret, R. Durand, Belfort et Lefaucheur (1937) (26) donnent un exposé critique de la méthode pratiquée sur 32.481 individus, presque tous indigènes.

On injecte à 25-30 jours d'intervalle une dose correspondant à $1/200$ de cerveau de rat. La première injection peut être omise.

On n'observa que 5 cas de typhus murin vaccinal, dont 2 chez les Européens ; après une incubation de 10 à 13 jours, on observe une maladie typique d'une durée de 12 à 15 jours. Le début est marqué par un réveil douloureux à l'épaule. La réaction de Weil-Félix devient positive au cours de la fièvre ou lors de la défervescence. On a observé en outre 8 réactions fébriles douteuses, dont 6 chez les Européens ou Arabes urbanisés. Ces réactions s'observent avec une plus grande fréquence pour cer-

tains lots de vaccins que pour d'autres, prouvant ainsi l'instabilité du virus.

Après vaccination, la réaction de Weil-Félix n'est que très rarement positive, mais elle est susceptible de le devenir ultérieurement lors d'une poussée fébrile même de nature non typhique.

Dans les foyers épidémiques vaccinés, les épidémies s'arrêtent dans les 3 semaines qui suivent la vaccination, et les foyers vaccinés restent encore indemnes l'année suivante.

On peut observer des cas de typhus chez certains sujets, vaccinés alors qu'ils étaient déjà en incubation. Ces cas sont plus rares et moins graves que chez les sujets non vaccinés. On connaît à Tunis 3 cas de typhus historique chez des vaccinés anciens, 15 en Algérie sur 821 sujets vaccinés. On observe aussi des fièvres bénignes rappelant les fièvres de réinfection qu'on peut observer chez les sujets qui ont déjà eu antérieurement une atteinte spontanée de typhus.

MÉTHODE DE LAIGRET ET R. DURAND

Le vaccin précédent est de préparation délicate, et se conserve peu à température ordinaire. Le virus est instable et par conséquent les réactions vaccinales, de même que l'immunité conférée, sont difficiles à prévoir. De plus, l'injection huileuse est difficile à pratiquer. C'est pourquoi Laigret et R. Durand (1939) mirent au point une technique leur permettant de doser le virus, en contrôlant son activité,

tout comme pour le virus amaryl, par l'apparition de paralysies chez la souris. Le virus murin Tu P 1, de Ch. Nicolle et H. Sparrow est adapté à cet animal.

Technique de préparation (27)

La souris paralysée est sacrifiée et son cerveau broyé avec 12,5 gr. de phosphate et 40 gr. de jaune d'œuf stérile. On dessèche 48 heures dans le vide en présence de Cl^2Ca , on broie et on tamise. La virulence du produit est titrée par injection intrapéritonéale de dilutions différentes à des souris. Le produit est réparti en ampoules de 1, 2, 5 et 10 doses et en tablettes de 20 doses. Le vaccin conserve son activité après 5 mois de conservation au frigorifique. Il suffit de le diluer dans l'eau au moment de l'emploi ; le titrage représentant une garantie suffisante, l'enrobage huileux est jugé inutile.

Application de la méthode (28)

Chez l'indigène, on pratique une injection unique de 1 cc. correspondant à 10 unités-souris. Chez l'Européen on pratique deux injections successives de 1/10, puis 1 cc., à 25 jours d'intervalle (ou même trois injections dont la première tuée par la chaleur). Sur 130 cas, aucune réaction fâcheuse n'a été notée.

De Mai 1939 à Mai 1940, 200.488 vaccinations ont été pratiquées par cette méthode. Dans tous les centres vaccinés l'épidémie s'est rapidement arrêtée.

Dans un centre seulement, on observa 20 cas de typhus confirmé sur 25.000 vaccinations.

VACCINATION PAR SCARIFICATIONS CUTANÉES
(MÉTHODE DE LAIGRET) (29)

A la suite des essais favorables de vaccination contre la fièvre jaune pratiqués par scarifications cutanées par Peltier, Durieux, Jonchère et Arquié, J. Laigret imagina d'utiliser la même voie, éminemment pratique et bien acceptée en milieu indigène, pour la vaccination contre le typhus.

Laigret et Priet (1939), utilisent le même vaccin mis au point par Laigret et R. Durand. Un comprimé de vaccin est écrasé dans xx gouttes d'eau distillée stérile, de façon à charger 20 vaccinstyles. Une goutte correspond ainsi à 2.000 unités-souris, c'est-à-dire 10 fois la dose employée par voie sous-cutanée.

20 doses humaines appliquées par scarifications sur le cobaye le protègent contre l'inoculation, pratiquée 50 jours plus tard, de 1/5 de cerveau virulent.

Laigret et Priet, en 1939, pratiquent ainsi 316 vaccinations sans observer de réaction générale notable.

Localement, il apparaît une petite élevation rouge qui persiste trois jours.

Sur les sujets ainsi vaccinés, quoique vivant en milieu épidémique, aucun ne contracta le typhus.

Laigret, Fabiani et Vargues (1942) ayant vacciné 991 sujets par cette même méthode, observent seulement 1 cas de typhus murin vaccinal, précisément le même qui fut observé par P. Durand et ses collaborateurs dans leurs expériences de la Maison Carrée, que nous relaterons plus loin.

Le test de Giroud est positif dans un tiers des cas, comme après vaccination par la voie habituelle.

Les mêmes auteurs préconisent d'associer en un vaccin mixte, leur vaccin au vaccin anti-variole, cette association ne nuisant pas, estiment-ils, à la formation des pustules vaccinales.

MÉTHODE DE BALTEANU ET CONSTANTINESCO (1937)

Ces auteurs emploient le cerveau de cobaye infecté de typhus historique et tentent d'atténuer leur virus par enrobage dans l'huile (30). Leurs expériences sur l'animal ou sur l'homme ont complètement échoué : ou bien un typhus caractérisé survient à la suite de l'injection, ou bien les sujets n'ayant pas réagi contractent ultérieurement le typhus, soit après une injection d'épreuve, soit après un séjour dans un foyer épidémique.

VACCINS TUÉS.

Da Rocha Lima en 1918 (31), Martini en 1919 (32), Breinl en 1924 (33), obtinrent chez l'animal une certaine immunité par l'injection de suspension

phéniquée de poux infectés broyés ou d'intestins de poux, ou par combinaison de vaccin à base de poux au sérum immun. Dyer, Workman, Rumreich et Badger en 1932 expérimentèrent des vaccins à base de puces infectées de typhus murin (34).

MÉTHODE DE WEIGL (1920)

Technique de préparation (35)

De jeunes poux élevés au laboratoire sont infectés par voie anale sous le microscope binoculaire à l'aide d'une fine pipette remplie d'une émulsion d'intestins de poux infectés. Puis ils sont nourris sur des sujets immunisés. Au bout de 10 jours environ la lumière intestinale du pou est remplie d'une abondance de Rickettsies (10 à 100 millions). L'intestin du pou est disséqué sous le microscope, broyé et émulsionné en eau physiologique phéniquée à 0,5 %.

Pour obtenir un vaccin de concentration constante, on mélange les émulsions des intestins de poux récoltés pendant plusieurs mois.

Primitivement, on injectait successivement à 3 ou 6 jours d'intervalle 3 doses correspondant successivement à 25, 50 et 100 intestins de poux, soit 175 intestins au total. Puis cette quantité fut réduite à 90 intestins pour réduire le prix de revient et augmenter la production. Dans la pratique courante des vaccinations, la dose totale put être abaissée à 10 poux, les doses plus importantes étant réservées au

personnel sanitaire, plus exposé à la contagion massive (36).

Chrzanowski et Mosing (1933) démontrent expérimentalement le haut degré de virulence des crottes de poux et leur excellente valeur antigène (37). Ils proposent d'adjoindre au vaccin de Weigl ordinaire les crottes de poux infectés recueillies, ce qui permettrait d'élever de 30 % la production.

*Application de la méthode ; réactions vaccinales,
pouvoir préventif (38)*

Les réactions causées par l'injection vaccinale sont très bénignes : légère rougeur locale fugace, petite poussée thermique à 37°5 ou 38° le lendemain dans 1 % des cas environ.

Le pouvoir immunisant du vaccin est manifeste et les observations à ce sujet abondent. Radlo (1937) (36) rapporte que dans le district de Jaworow, près de Lwow, 13.980 personnes furent vaccinées en 4 ans avec des doses totales allant de 90 intestins de pou à 1 seulement ; le nombre de cas de typhus dans cette région passa de 200 à 12 l'année suivante. Les 55 cas de typhus apparus chez les vaccinés déjà en cours d'incubation lors de la vaccination, furent bénins. Sur 5 cas de typhus apparus dans un délai de 2 mois à trois ans après vaccination, il n'y eut aucun cas de mort.

Dans une mission catholique belge en Chine, où le typhus causait chaque année 4 ou 5 décès sur 180 missionnaires, Tchang et Lotsong relatent que

la vaccination fit disparaître totalement cette cause de mortalité (39).

Nicolle et Sparrow, inoculant deux enfants vaccinés avec une émulsion de cerveau de cobaye typhique, observent que ces enfants résistent à l'épreuve. Les nourrisseurs de poux infectés dans le laboratoire de Lwów sont simplement vaccinés et ne contractent pas le typhus (40).

Le vaccin de Weigl fut employé aussi avec succès dans les régions infectées de Slovaquie et des Subcarpathes, ainsi que le rapporte Drbohlav (41), et en Ethiopie, d'après Mariani (25.000 vaccinations parmi les troupes italiennes, lors de la campagne d'Ethiopie) (42).

A cette méthode toutefois on doit reprocher son prix de revient élevé ; la préparation de ce vaccin exige en effet l'emploi d'un personnel hautement spécialisé et très nombreux. En outre, l'élevage des poux présente de grandes difficultés et les éleveurs de poux présentent parfois des signes d'anémie.

Néanmoins, en dehors de son intérêt scientifique pur, cette méthode est la preuve de l'efficacité des vaccins tués.

MÉTHODE DE ZINSSER ET R. CASTANEDA

Les recherches de ces auteurs viennent à la suite des essais tentés par Zinsser et Batchelder (1930) (43) de sérovaccination du cobaye, puis de vaccination du cobaye à l'aide de doses massives de suspension for-

molée d'exsudat péritonéal obtenu chez cet animal par l'inoculation de virus murin.

A la suite des travaux de Spencer et Parker (1925) sur la vaccination contre la fièvre pourprée (44), et de leurs propres recherches, ils estiment nécessaire l'utilisation de suspensions très concentrées en Rickettsies et c'est pourquoi ils utilisent le virus murin mexicain dont l'inoculation intrapéritonéale provoque une orchite intense. Ils augmentent la quantité des Rickettsies dans l'exsudat d'abord par injection intrapéritonéale de benzol au cobaye, mais le régime scorbutigène leur donne des résultats encore meilleurs et pleins de promesses. Ils prouvent aussi que leurs suspensions formolées à 0,2 % constituent bien un virus tué (45).

Technique de préparation (46)

Elle s'adresse au rat, mis en état de moindre résistance à l'infection par irradiation. Les rats sont irradiés 1 heure avec une intensité de 10 « r » par minute sous une longueur d'onde de 0,150 A, puis aussitôt infectés par voie péritonéale avec une suspension de vaginales infectées de typhus mexicain. On recueille l'exsudat péritonéal des rats morts vers le 4^e ou 5^e jour, on y ajoute le produit de rinçage du péritoine par l'eau physiologique formolée à 0,2 % et le broyat des vaginales et des testicules. La suspension est centrifugée et étalonnée pour contenir environ 1 milliard de germes au cc. On injecte à une semaine d'intervalle 3 ou 4 doses croissantes de 0,5 à 4 cc.

Castañeda utilise aussi le cobaye ou le mouton refroidis. Varela, Parada Gay et Aguayo (1934) (47) associent à l'irradiation l'injection intrapéritonéale de sang. Le vaccin fut essayé par Casco (1932) (48), Zinsser (1937) (49), Veintemillas (1939) (50).

Efficacité du vaccin

Les épreuves à l'inoculation de virus typhique européen chez le cobaye vacciné par 3 ou 4 doses de vaccin ne démontrent qu'une immunisation généralement incomplète, alors que la protection contre le virus murin ne demande qu'une seule dose de vaccin. Chez l'homme, l'immunisation n'est acquise que dans 9 cas sur 12, ainsi que le prouvent les inoculations d'épreuve.

Zinsser lui-même ne considère pas que la méthode murine ait un pouvoir protecteur complet vis-à-vis du typhus européen et c'est pourquoi, avec Macchiavello, il tenta ensuite la vaccination par culture de virus historique sur tissus par la méthode de Nigg et Landsteiner.

VACCINS PRÉPARÉS PAR CULTURES DE TISSUS

Nigg et Landsteiner (1930) (51) parviennent à cultiver les Rickettsies sur vaginale hachée de cobaye dans une solution de Tyrode. Kliger et Aschner (1934) (52) préparèrent par cette méthode des vaccins formolés contre le typhus historique et le typhus murin méditerranéen : dans le liquide de cul-

ture après développement des Rickettsies, les tissus infectés sont broyés, le mélange est centrifugé, le dépôt est trituré, puis congelé et dégelé à 2 reprises, trituré une seconde fois et remis en suspension dans le liquide surnageant original. On ajoute alors du formol à raison de 0,1 %. On a pu grâce à 3 injections de ce vaccin, immuniser le cobaye contre l'inoculation d'environ 800 doses infectantes de virus.

P. Giroud et Plotz (1936) (53) ont constaté que les cultures confèrent une excellente immunité contre l'inoculation du virus de passage et que la voie intradermique est une de celles qui, pour un minimum de réactions générales, suscitent la meilleure immunité. Partant de ces données, P. Giroud (1936) (54) a préparé, à l'aide du virus murin de Tunis, un vaccin desséché et enrobé par la technique de Nicolle et Laigret. Trois injections intradermiques au moins sont nécessaires pour déterminer, sans réaction, une immunité importante chez le singe contre l'inoculation d'épreuve au virus historique.

Zinsser et Macchiavello (1936) (55) puis Schöenbach parviennent à montrer qu'en milieu de Nigg et Landsteiner le développement des Rickettsies est maximum quand l'activité métabolique des tissus (maxima vers la 48°-72° heure) s'est abaissée, et que d'autre part un excès de tissus est nuisible.

Zinsser, Wei et Fitzpatrick (1938) (56) mettent au point cette technique et obtiennent ainsi une culture d'un rendement 10 fois supérieur à celle du

flacon de Maitland. Le milieu est une gélose à 4 % additionnée d'une égale quantité d'un mélange de sérum de cheval et de tyrode double à quantités égales. On ajoute du rouge neutre comme indicateur. La surface de la gélose est recouverte d'un mélange de hachis de vaginale de cobaye ou d'embryon de souris à quelques gouttes de suspension de Rickettsies. Le pH optimum est 7,6-7,8 ; on maintient celui-ci toujours au-dessus de 7 grâce à un tube de verre effilé disposé dans le bouchon du tube, et que l'on soude ou sectionne selon la réaction du milieu. La culture est apparente au 6^e jour, et très abondante au 10^e jour.

Cette méthode permet la culture des virus murin, historique et pourpré, et du virus du Tsutsugamuchi, et par suite la préparation de vaccins formolés contre ces maladies.

Zia, Pang et Liu (1940) (57) préparent un vaccin en mettant les cultures en suspension dans une solution de merthiolate à 1/10.000 et d'acide phénique à 0,5 %.

150 personnes vaccinées avec 3 doses de 2,5 cc. à une semaine d'intervalle n'eurent que des réactions locales très légères, suivies un mois plus tard de réactions de Weil-Félix fortement positives.

Fitzpatrick (1939) (58), sur gélose additionnée d'embryon de souris, obtient des cultures de virus historique et de virus pourpré. Pour obtenir son vaccin, il broie les tissus infectés d'un tube dans 3 cc. d'eau physiologique formolée à 0,2 %. Les animaux,

cobayes et singes, sont vaccinés et présentent une réaction de Weil-Félix positive.

VACCINS OBTENUS PAR CULTURES SUR OEUF

Sato (1931) (59) obtient le développement des Rickettsies par culture sur gélose additionnée d'embryon de poulet. Godspature et Lighivens préparent ainsi un vaccin phéniqué.

A la suite des travaux de Zia (1935) (60), Bruynoghe et Jadin (1936) (61) préparèrent un vaccin phéniqué par culture sur la membrane chorio-allantoïde de l'œuf en cours de développement.

Barykine (1938) (62), puis Cox (1938) (63) découvrirent que la plupart des virus des fièvres exanthématiques peuvent être cultivés dans l'enveloppe du jaune de l'embryon de poulet en voie de développement.

Le développement des Rickettsies dans le jaune de l'œuf est tel que le pouvoir infectant en est 100 à 1.000 fois supérieur à celui qu'on obtient par les autres méthodes de cultures, une dilution à un milliardième infectant le cobaye.

La technique est la suivante : l'œuf, incubé 6 jours à 39°, est inoculé en plein jaune et déposé ensuite à la température de 37°5. Au 3° ou 4° passage, les œufs meurent en 4 ou 5 jours. Les membranes sont prélevées, broyées et centrifugées. Selon la concentration en Rickettsies, on obtient 6 à 25 cc. de vaccin par œuf. Le vaccin a été utilisé en Espa-

gne ; on pratique trois injections à une semaine d'intervalle. L'immunité apparaît 15 jours après la dernière injection.

Tout récemment enfin, Gildemeister et Haagen (1942) (64) après de premiers essais de culture de *R. Mooseri* sur œuf, adaptent leur technique à la culture de *R. Prowazeki* et obtiennent jusqu'à 27 et 54 passages continus sur œuf. L'œuf, incubé 8 jours à 39°, puis maintenu, après inoculation, 5 jours à 37°, est ouvert aseptiquement et les membranes sont recueillies. Seules celles qui contiennent plus de 5 à 10 Rickettsies par champ microscopique sont utilisées. Elles sont agitées 24 heures, filtrées sur gaze, maintenues 1 heure au bain-marie à 52-54° et émulsionnées en solution de Ringer phéniquée à 0,5 %, puis on conserve 3 jours à la glacière. A toutes les phases de la préparation on s'entoure de grandes précautions d'asepsie et de contrôles de stérilité bactérienne. Les différentes émulsions sont mélangées quand la production totale est de 1 litre.

Les auteurs arrivent à traiter 800 à 2.000 œufs par mois, mais il y a un important déchet, qui, au cours des mois les plus favorables (Avril à Août) n'est pas inférieur à 30 %.

VACCINS DE CULTURE COMBINÉE

Zinsser, Plotz et Enders (1940) (65) utilisent l'enveloppe du jaune d'œuf au 4^e jour de l'infection pour inoculer sur une grande surface, une gé-

lose recouverte d'embryon de poulet haché. Le développement des Rickettsies est abondant après 6 ou 7 jours à 37°. Ils arrivent à produire par cette technique 300 doses complètes de vaccin par semaine.

III. — SÉRO-VACCINATION

La séro-vaccination réaliserait en quelque sorte une vaccination par virus vivant atténué par l'adjonction de sérum immum.

Les premiers essais furent réalisés par Weil et Breinl (1925) (66) et à leur suite par Fukuda (1929) (67), Anigstein (1935) (68), Zinsser et Macchiavello (1936). Bien qu'il soit possible par ces méthodes d'obtenir une immunisation active sans réaction fâcheuse, l'équilibre entre les deux composants doit être rigoureusement établi, et encore cet équilibre est-il susceptible d'être influencé par les tolérances individuelles des sujets séro-vaccinés.

D'autre part, s'inspirant des essais de Martini (1919) (69) qui employait un mélange de vaccin de Da Rocha Lima à du sérum de cheval immunisé, Weigl (1937) (70) tente la séro-vaccination par association de son vaccin à du sérum de sujets récemment vaccinés par sa méthode. Il estime, en effet, que de tels sérums ont un pouvoir protecteur au moins égal à celui du sérum de convalescents de typhus.

L'avantage de ces méthodes, comme de toutes

les méthodes de séro-vaccination antidiphtérique, antitétanique ou autre, est évidemment de réaliser une immunisation à la fois immédiate et de longue durée.

IV. — COMMENTAIRES

L'étude critique des différentes méthodes de vaccination que nous venons de passer en revue sommairement, a été entreprise successivement par Ch. Nicolle (1935) (71), tout récemment par Murgatroyd (1940) (72) et Dyer (1941) (105).

Tous les auteurs s'accordent à admettre que la vaccination par virus historique vivant, pur ou associé à l'injection de sérum immun, est trop dangereuse pour pouvoir être pratiquée.

Nicolle estime que « pour que l'inoculation laisse à sa suite une immunité, si légère soit-elle, il est nécessaire qu'il y ait eu infection, donc emploi de virus vivant », et que l'immunité conférée par virus tué décroît rapidement. Mais il accorde dans le même travail que le vaccin de Weigl « est la meilleure arme dont nous disposions actuellement contre le typhus, bien que son efficacité ne soit pas durable ».

Les partisans des vaccinations par virus vivants atténués, avec G. Parrot (73), estiment d'après une classification peut-être trop rigoureuse d'ailleurs, que le typhus est à ranger parmi les affections pré-

munisantes, c'est-à-dire que la résistance à une réinfection est due à ce que le germe ayant causé la première atteinte persiste encore dans l'organisme. Mais outre que la prémunition dans le typhus exanthématique n'est pas, au moins chez l'homme, absolument démontrée, il est encore moins prouvé que « l'état de prémunition » ne laisse pas à sa suite un état d'immunité vraie. G. Blanc (74) explique par un « phénomène de préséance », le fait qu'un individu atteint de typhus murin, apparent ou non, ne puisse contracter ensuite une atteinte de typhus historique.

Les vaccinations par virus murin atténué présentent plusieurs difficultés. La conservation de ces vaccins est difficile et de courte durée. La difficulté de l'atténuation du virus est la principale. Zinsser estime même que le vaccin est soit virulent donc dangereux, soit tué donc peu actif étant donnée sa faible concentration en virus. Les auteurs français estiment que leurs méthodes ne sont pas dangereuses. Il y a lieu de remarquer cependant que ces méthodes n'ont été appliquées sans danger qu'à des populations qui, vivant dans des régions où le typhus est endémique, possèdent avant même la vaccination une immunité légère, atavique ou précocement acquise, qui leur permet de supporter l'injection de virus vivant atténué. Mais qu'au contraire ces méthodes sont dangereuses à appliquer aux Européens ou aux populations américaines.

Aussi est-ce dans cet esprit que Laigret et R. Du-

rand utilisent chez les Européens leur vaccin au cerveau de souris en 3 doses successives, la première de virus tué.

Signalons encore que Lépine et Bilfinger (1934) (75), sur des singes atteints de typhus murin expérimental dont le tissu réticulo-endothélial avait été bloqué par exposition au froid, parvinrent à infecter sur eux des poux dans la proportion de 100 %. De même Nicolle et Laigret, sur un sujet présentant une réaction fébrile après vaccination par leur méthode, constatent qu'il infecte les poux ; c'est pourquoi Danielopolu, émet des réserves quant au danger qu'il y aurait à introduire un virus murin en Europe. La décision de pratiquer en grand une vaccination par virus atténué demande donc mûre réflexion, ainsi que l'estime le Comité d'Experts réuni à ce sujet à la S.D.N. les 8-10 Février 1937 (78).

Il n'en reste pas moins vrai que les vaccins murins atténués, déjà appliqués sur une très grande échelle, sont certainement très efficaces et qu'ils ont rendu de précieux services en Afrique du Nord, en particulier au cours des épidémies de 1936-1937.

Les vaccins tués présentent eux aussi de réels inconvénients. Le virus tué a un pouvoir immunogène si limité en comparaison du virus vivant qu'il est nécessaire de parvenir à une récolte d'une concentration énorme. La méthode de Weigl y parvient. Elle a fait ses preuves, ainsi qu'il a été dit plus haut. Mais son rendement est si limité, en dépit du travail considérable qu'elle nécessite d'un personnel haute-

ment spécialisé, qu'elle n'est pas applicable en grand. Pour augmenter la production, on a réduit la richesse de la suspension. Aussi Lépine (1938) estime-t-il que l'immunité conférée par le vaccin de Weigl devient incertaine après 1 an.

Du point de vue du rendement industriel, on peut en dire autant, jusqu'à présent, des méthodes par culture sur tissus ou sur œuf.

Quant à la méthode de Zinsser et R. Castañeda, quoique produisant en grande abondance le virus murin mexicain sur les rats irradiés, elle est aussi peu active contre le typhus historique que la méthode de Weigl contre le typhus murin. L'immunisation par vaccins tués contre les fièvres exanthématiques est en effet spécifique du virus employé dans la préparation.

D'après Blanc, cette spécificité si stricte des vaccins tués porte même à croire que l'immunité homologue elle-même doit être faible, et qu'en tout cas il est nécessaire d'utiliser de fortes concentrations.

Malgré l'activité d'un vaccin tel que celui de Weigl, les auteurs partisans des vaccins vivants atténués se sont néanmoins efforcés de faire la preuve expérimentale de l'inactivité des vaccins tués. C'est ainsi que Noury (1938) (79) injecte quotidiennement au cobaye pendant 1 mois 1 cc. de suspension à 5 % de cerveau de cobaye typhique murin, en sérum physiologique phéniqué à 1 %. Mais cet organe est très pauvre en Rickettsies, et l'inoculation d'épreu-

ve, pratiquée par cet auteur aussitôt après la dernière injection vaccinale, n'a aucune valeur.

En résumé, ce qui importe pour la préparation d'un vaccin tué, c'est l'abondance de la récolte des Rickettsies, autant pour obtenir une *concentration de virus élevée* déterminant une solide immunité, que pour atteindre à une *production importante* de vaccin.

Seule la méthode de culture des Rickettsies sur poumons de lapin, que nous nous proposons d'étudier dans cette thèse, peut atteindre à ce double objectif.

DEUXIEME PARTIE

VACCINATION CONTRE LES FIÈVRES EXANTHÉMATIQUES PAR DÉVELOPPEMENT DES RICKETTSIES DANS LE POUMON

TITRE I

Pneumonies expérimentales à Rickettsies

A) HISTORIQUE DE L'ADAPTATION DES VIRUS EXANTHÉMATIQUES AUX POUMONS DES DIVERS RONGEURS

H. Sparrow et Lumbroso (1929) (80) étudiant l'effet de l'inoculation nasale de virus typhiques aux animaux, observent les réactions générales de ces animaux, sans toutefois rechercher les lésions pulmonaires.

Okamoto (1937) (81) inoculant par voie péritonéale les virus typhiques murin et historique à la souris, constate que le poumon est plus riche en cellules infectées que le foie, la rate et le cerveau.

Mais Wohlrab (1937) inoculant par voie nasale la souris anesthésiée à l'éther, ne constate aucune lésion des poumons.

Les premières expériences décisives sont dues à Castañeda (1939) (83) : cet auteur utilise pour ses inoculations une émulsion de vaginales de cobaye infecté de typhus orchitique mexicain. Cette émulsion est inoculée sous anesthésie générale à l'éther à la dose de 0,2 cc. par voie nasale chez la souris ou le rat, à la dose de 8 à 10 cc. par voie trachéale chez le lapin, cet animal étant maintenu hypothermique par injection de dial. La souris, animal le plus sensible, meurt hypothermique à la 96^e heure, porteuse de lésions pneumoniques. Une émulsion du poumon de la souris dans 7 cc. d'eau physiologique administrée par les mêmes voies à ces animaux, entraîne la mort de la 72^e à la 96^e heure.

P. Durand et H. Sparrow ont publié en 1940 des recherches du même ordre à l'aide des virus typhiques murin et historique (84). L'emploi des virus murins, souche Zinsser ou souche Tu P 1 de H. Sparrow leur donnent les mêmes résultats qu'à R. Castañeda : la souris meurt en 3 à 6 jours au premier passage, et en 40 à 96 heures avec des dilutions de poumon à 1/10 ou 1/100 aux passages suivants.

Par centrifugations fractionnées, on obtient pour un poumon (1) une suspension de 10 à 20 cc.

(1) N.B. — Signalons une fois pour toutes dès maintenant, que par *un poumon* (tant de lapin que de souris), nous entendons *l'ensemble des deux poumons* de ces animaux.

à peu près pure en Rickettsies et donnant un trouble égal à une suspension de germes T.A.B. à 1 milliard par cc. Les lésions sont massives : hépatisation hémorragique totale.

Avec le virus historique, que ces auteurs semblent avoir été les premiers à utiliser, l'inoculation respiratoire de broyat d'organes de cobaye est négative, mais l'inoculation de broyat de 1 ou 2 intestins de pou produit la mort de la souris en 3 jours au premier passage et en 40 heures aux passages ultérieurs. Les lésions pulmonaires et leur richesse en Rickettsies sont les mêmes que celles obtenues avec un virus murin.

D'autres rongeurs, souris grise, souris des champs, rat rayé, gerbille, gerboise, donnent des résultats analogues. Le mérion, le rat blanc et le cobaye paraissent moins sensibles. Mais les auteurs n'obtiennent chez le lapin, malgré l'intensité des lésions, qu'une faible concentration de Rickettsies dans les suspensions de poumon.

L'inoculation de virus boutonneux (broyat de rhipicéphales ou mieux vaginale de cobaye infecté) donne les mêmes résultats chez la souris et le mérion. De même, P. Durand, P. Giroud et Mme H. Sparrow (1940) (85) obtiennent avec le virus de la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses les mêmes lésions et la même maladie par l'inoculation à la souris, au mérion et au lapin après abaissement de sa résistance. Chez ce dernier animal, ils notent une hépatisation lardacée du poumon avec de très nom-

breuses Rickettsies. Ils ne notent pas de différences d'activité entre le virus provenant de la vaginale de cobaye infecté ou du Dermacentor, comme on l'observe avec le virus historique.

B) VIRULENCE DES POUMONS

Il a été possible de montrer le degré de virulence des poumons des rongeurs par plusieurs méthodes.

VIRULENCE DES POUMONS MISE EN ÉVIDENCE AU COURS DES PASSAGES

a) Avec le virus murin : souche Zinsser ou souche Tunis Port 1, l'inoculation nasale à la souris anesthésiée permet, dès le début des passages, l'utilisation de dilution de poumons de souris à raison de 1 poumon de souris pour 10, 100, 1.000, 10.000, 100.000 cc. d'un mélange de sérum de cheval dilué à 1/5 en eau physiologique.

On emploie couramment au cours des passages des dilutions à 1/5, mais on peut utiliser avec succès les dilutions à 1/10 et 1/100. A partir de ce taux, la durée de la maladie s'allonge mais la mort survient encore avec la dilution à 1/10.000. La dilution à 1/100.000 donne encore à la souris de courtes poussées thermiques.

Le rat inoculé par voie intrapéritonéale avec

1 cc. d'une dilution à 1/1.000 de virus murin Tu P 1, souche pulmonaire, présente dès le 2° jour une fièvre élevée et meurt au 5° ou 6° jour. La dilution à 1/10.000 donne la mort en 7 ou 8 jours. La dilution à 1/1.000.000 donne encore une fièvre élevée après 4 jours d'incubation.

Les poumons des 54° et 59° passages du virus Zinsser produisent chez le rat, avec des dilutions de 1/10.000 à 1/10 milliardièmes, une fièvre typique de 3 à 4 jours, après 2 à 6 jours d'incubation,

b) *Avec le virus historique* : les passages se font aisément avec une dilution à 1/10, et la mort survient au 2°-3° jour, au 4° jour avec la dilution à 1/100, du 7° au 11° jour avec la dilution à 1/1.000. Avec la dilution à 1/100.000, les Rickettsies sont rares dans les lésions, et les réactions thermiques sont faibles. Le virus historique est donc moins dangereux pour la souris que le virus murin, mais le cobaye inoculé par voie intrapéritonéale avec la souche pulmonaire présente avec la dilution au 1/10 fièvre élevée en moins de 48 heures ; la dilution à 1/10.000.000 ou 1/100 milliardième produit quelques poussées thermiques à 40°, et même une dilution à un trillionième produit encore une fièvre nette au 12° jour qui suit l'inoculation.

Avec les virus de la fièvre boutonneuse ou de la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses, la virulence des poumons inoculés par voie respiratoire est également très élevée.

VIRULENCE DES POUMONS MISE EN ÉVIDENCE
DANS LA PEAU

P. Giroud (1938) (86) a montré que la sensibilité cutanée locale vis-à-vis d'un virus typhique est inversement proportionnelle à la receptivité générale de l'organisme. C'est ainsi que le lapin inoculé par voie intrapéritonéale à l'aide de vaginale de cobaye infecté d'un virus murin (souche Zinsser ou Tu P 1) ne présente qu'1 ou 2 jours de fièvre, alors que l'injection intradermique de 1/2.000 de vaginale produit un nodule net et la création d'anticorps immunisants.

Le cobaye, très sensible à l'inoculation intrapéritonéale, présente une vaginalite importante avec de très nombreuses Rickettsies, mais ses réactions cutanées sont plus faibles.

Le rat et la souris, animaux hypersensibles aux virus typhiques, ne présentent pas de réactions cutanées, même avec des doses nécosantes pour la peau du lapin. Le lapin est donc l'animal de choix pour doser la virulence d'une souche pulmonaire. En outre, cette méthode permet d'utiliser un test plus nettement objectif et moins sujet à variations que les réactions fébriles du cobaye ou du rat, animaux ordinairement utilisés pour rechercher la virulence d'un organe ou apprécier le degré de cette virulence.

La réaction de la peau du lapin à l'injection intradermique de matériel virulent se présente de la

façon suivante : au 2° jour après l'inoculation apparaît une plage d'érythème, suivie de l'apparition entre le 4° et le 6° jour d'un nodule de grosseur variable (d'un pois à une noix), nodule qui persiste jusqu'au 10° jour et peut même parfois se nécroser plus ou moins largement. Puis le nodule régresse et disparaît, La peau peut encore conserver ensuite un aspect glabre ou furfuracé, alors que les poils alentour commencent à repousser sur la peau épilée.

Nous sommes donc en mesure, à l'aide de cette épreuve, de doser la virulence d'un organe d'animal infecté de typhus. Nous pouvons comparer ainsi particulièrement élevée du poumon par rapport aux deux virus et nous convaincre aussi de la virulence autres organes. P. Giroud (1938) a montré ainsi qu'on peut obtenir une réaction nodulaire dans la peau du lapin par inoculation de 1/250 de vaginale de cobaye infecté de virus murin Tunis Port 1 ou de 1/1.000 de vaginale de cobaye infecté de virus murin mexicain, et que cette virulence peut être exaltée si l'animal a été mis en état de moindre résistance (carence C, par exemple) (1936) (87).

P. Durand et P. Giroud (1940) (88) montrent ensuite que l'inoculation intradermique de poumon de souris au lapin produit une réaction nodulaire nette avec une dilution à 1/10.000 (virus historique) ou à 1/20.000 (virus murin). De même, l'inoculation intradermique de virus pourpré au lapin produit une réaction nécrotique avec une dilution à 1/8.000 ou 1/4.000.

Nous voyons donc par toutes ces expériences que l'inoculation par voie respiratoire sous anesthésie aux rongeurs, et particulièrement à la souris, produit des lésions pneumoniques intenses, très riches en Rickettsies et hautement virulentes.

Il restait à faire la preuve du pouvoir antigène des suspensions de poumons pour asseoir définitivement une méthode de vaccination.

C) POUVOIR ANTIGÈNE DES SUSPENSIONS FORMOLÉES DE POUMONS

Le broyat du poumon d'une souris ou d'un lapin infecté par voie respiratoire est émulsionné dans du sérum humain ou équin dilué à 1/5 en eau physiologique formolée à 0,2 %, soumis à des centrifugations successives pour éliminer les gros débris. Le culot terminal, obtenu par centrifugation rapide prolongée, est repris par le sérum dilué formolé et conservé 5 jours à la glacière.

P. Durand et P. Giroud estiment à l'époque (1940) que le poumon de souris est environ 2 fois plus virulent que le poumon de lapin, puisqu'ils obtiennent une réaction nodulaire pour une dilution à 1/10.000 de poumon de souris ou pour une dilution à 1/4.000 de poumon de lapin. Ceci entraîne pour conséquence qu'un vaccin à base de poumon de lapin devrait en contenir 2 fois plus qu'un vaccin à base de poumon de souris.

ESSAIS CHEZ L'ANIMAL (89)

Les auteurs vaccinent d'abord 5 lots de cobayes :

le 1 ^{er} lot avec	1/10	de poumon de souris :	dose unique,
le 2 ^e lot »	1/10	»	: 2 inject. à 6 jours d'intervalle,
le 3 ^e lot »	1/100	»	: dose unique,
le 4 ^e lot »	1/100	»	: 2 inject. à 6 jours d'intervalle,
le 5 ^e lot »	1/100	»	: 3 inject. à 6 jours d'intervalle,

Il n'y a pas de réaction locale ou générale consécutive. 24 jours après la dernière injection vaccinale, les animaux sont éprouvés par inoculation intrapéritonéale de 1/100 de cerveau de cobaye de passage. Cette inoculation d'épreuve montre que la protection conférée est d'autant meilleure que les injections d'antigène formolé ont été plus répétées, et que cette répétition des doses vaccinales a plus d'importance que la concentration de la suspension injectée.

P. Durand et P. Giroud expérimentent ensuite sur le singe : 3 injections intradermiques à 5 jours d'intervalle, de 1 cc. chaque fois de vaccin, réparti en 3 points différents.

La réaction de Weil-Félix apparaît positive au 8^e jour, en même temps que le test de séro-protection cutanée locale. 2 mois plus tard, l'inoculation d'épreuve de 1 cc. de broyat de caillot sanguin de cobaye de passage ne provoque aucune réaction thermique, alors que sur les 2 singes témoins une telle inoculation infecte un animal et tue le second, et

qu'une dose 10 fois moindre infecte régulièrement le cobaye.

ESSAIS SUR L'HOMME

12 sujets reçoivent, à une semaine d'intervalle, 3 injections correspondant respectivement à 7, 12 et 18/100 de poumon de souris. La présence d'anticorps neutralisants dans leur sérum est révélée par l'agglutination du *Protéus* X 19 positive au 20^e jour, et au 59^e ou 80^e jour par l'apparition de l'agglutination des *Rickettsies* de l'intestin du pou (réaction de Weigl) et le test de séro-protection cutanée locale.

D) LE TEST DE SÉRO-PROTECTION CUTANÉE LOCALE, DE P. GIROUD

P. Giroud (1938) ayant constaté la possibilité de dosage des virus typhiques dans la peau, a proposé d'apprécier par cette méthode le pouvoir virulicide d'un sérum de convalescent ou de sujet immunisé. P. Giroud estime en effet (90) que les anticorps des fièvres exanthématiques sont mal décelés par la réaction de Weil-Félix, trop peu spécifique ; que la méthode de séro-protection générale du cobaye est décevante en raison de sa variabilité et du grand nombre d'antimaux qu'elle nécessite ; enfin, que les méthodes de recherche des anticorps par l'in-

dex opsonique et la fixation du complément sont infidèles et difficiles à pratiquer (91).

L'exactitude et la précision du test de P. Giroud ont été confirmées ensuite par M. Baltazard et par Paul Durand.

On utilise le cobaye à poil blanc, ou mieux le lapin à poil foncé non entrecroisé, à derme épais, à peau uniorme. Il faut un animal neuf, épilé à la main plusieurs jours avant, ou qui vient d'être tondu à la tondeuse électrique (92).

Le matériel virulent employé est soit la vaginale d'un cobaye infecté de virus contenant des Rickettsies, prélevée au 6^e jour de l'infection par passage vaginale-péritoine et finement broyée, soit des membranes d'œuf infecté, soit mieux encore le broyat de poumon de souris ou de lapin, infectés par voie respiratoire et sacrifiés hypothermiques.

Les injections se font intradermiques à la dose de 1/10 cc. chez le cobaye ou de 2/10 cc. chez le lapin, et sont pratiquées à la région paravertébrale ou au flanc, assez distantes les unes des autres. D'un côté on injecte une émulsion à taux variable de poumon en sérum équin ou humain normal dilué à 1/5 dans de l'eau physiologique, de façon à pouvoir apprécier la quantité de poumon de souris nécessaire pour déterminer une réaction d'importance moyenne. De l'autre côté, on injecte une émulsion à taux variable de poumon dans une quantité fixe du sérum à étudier.

La lecture de la réaction doit être faite du 4^e au

7^e jour ; selon la quantité de Rickettsies employée et le pouvoir neutralisant du sérum, elle est totalement ou partiellement empêchée. P. Giroud a révélé par sa technique la présence d'anticorps du virus historique pendant la crise ; et jusqu'à 23 ans après chez un malade gravement atteint. Dans le typhus murin, il a de même décelé leur présence depuis le 9^e jour de l'infection et jusqu'à 4 ans après, et de même chez des convalescents de fièvre boutonneuse. Il a pu de même les mettre en évidence à la suite d'un typhus murin bénin, et chez une aide de laboratoire qui avait dû présenter une maladie inapparente, étant en contact permanent avec le virus depuis plus de 8 ans, sans avoir jamais présenté de signe clinique de maladie.

Ce test de séro-protection cutanée, si sensible et précis, a été pratiqué avec le sérum de 12 sujets vaccinés 59 ou 80 jours auparavant par 3 injections à une semaine d'intervalle, correspondant respectivement à 7/100, 12/100 et 18/100 de poumon de souris. *Chez 11 de ces sujets, le test de séro-protection cutanée montre la neutralisation totale ou sub-totale du virus.* Vis-à-vis du virus murin, le sérum des vaccinés par l'antigène virus-historique tué donne des résultats moins nets.

P. Giroud (1938) (93) a cherché à expliquer pourquoi chez l'un des 12 sujets vaccinés, la réaction du lapin à l'injection du mélange virus-sérum était plus intense que celle produite par l'injection témoin, cette réaction paradoxale ayant été aussi

observée chez les sujets vaccinés par des suspensions de Rickettsies phéniquées (vaccin de Weigl). Il pense que celle-ci pourrait être due à la persistance de l'antigène dans le sérum, persistance qui permettrait de supposer que l'immunité conférée par un antigène tué s'apparente au phénomène de prémunition. Cette réaction paradoxale s'expliquerait encore par une sensibilisation passive, comparable à la sensibilité locale obtenue par injection à un sujet normal du sérum de sujets hypersensibilisés aux protéines.

L'injection d'antigène tué produirait donc tantôt des substances neutralisantes, tantôt au contraire des substances sensibilisantes, ou bien entraînerait la persistance d'un reliquat d'antigène.

*
* *

Nous venons d'étudier ici les bases expérimentales de la vaccination contre les fièvres exanthématiques par la méthode de P. Durand et P. Giroud. Il nous reste encore à étudier l'application pratique de ces données, l'un de ces auteurs continuant à employer le poumon de souris qu'il considère comme plus riche en Rickettsies, l'autre s'attachant à obtenir une production plus importante par l'utilisation du poumon de lapin.

TITRE II

Le Vaccin contre le Typhus Exanthématique préparé à l'aide du poumon de souris

Cette méthode de vaccination mise au point par P. Durand et P. Giroud (1940) est exposée en détail dans les thèses de Roche (1940) (94) et de Royer (1942) (95). Aussi ne nous étendrons-nous pas longuement à son sujet.

TECHNIQUE DE PRÉPARATION

Dés souris blanches de 16-18 gr., inoculées par voie nasale sous anesthésie générale à l'éther avec une dilution à 1/10 de poumon de souris de passage, sont sacrifiées mourantes en état d'hypothermie prononcée entre la 40^e et la 60^e heure. Les lésions sont importantes. Le poumon est prélevé : le poids moyen est de 0,30-0,40 gr. On vérifie par coloration au Castañeda sa richesse en Rickettsies. Les poumons sont broyés dans un broyeur spécial en verre Pyrex (broyeur de Durand) ou dans un broyeur à billes en acier. Le broyat est émulsionné en sérum humain

ou équin dilué à 1/5 en eau physiologique phosphatée (pH à 7,4) et formolé à 2 0/00 avant l'emploi. L'émulsion est centrifugée 5 minutes à 3 reprises pour séparer les cellules et les gros débris qui à chaque fois sont repris et broyés à nouveau. L'émulsion est ensuite centrifugée 1 heure à 7.000 tours-minute ; les liquides surnageants sont éliminés et le culot est à nouveau émulsionné dans le même mélange sérum-eau physiologique formolée. La coloration à la cyanoquine ou au Castañeda montre que les 9/10 du culot sont constitués de Rickettsies.

Le vaccin, mis en ampoules, est conservé 5 jours à la glacière avant d'être utilisé. L'inoculation à hautes doses au cobaye montre son absence totale de virulence.

RENDEMENT PRATIQUE DE LA MÉTHODE

Pour obtenir une opacité correspondant à celle d'une suspension d'un milliard de germes T.A.B. par centimètre cube, il est nécessaire d'émulsionner le broyat de poumon traité et centrifugé ainsi qu'il vient d'être exposé, dans 20 cc. pour un poumon de souris.

En traitant donc 50 souris par jour, dans un laboratoire entraîné et pourvu d'un personnel nombreux, consacrant toute son activité à ce seul travail, on obtiendrait une production journalière d'un litre

de vaccin, c'est-à-dire d'environ 330 doses complètes de 3 cc., soit donc 10.000 doses par mois.

RÉACTIONS VACCINALES

Elles sont étudiées dans la thèse de Royer, en particulier d'après la vaccination du pénitencier de Saouaf en Juin 1941, qui fut pratiquée sur environ 200 individus par 3 injections sous-cutanées de 1 cc. à 7 jours d'intervalle. La première injection détermina dans 17 % des cas de l'œdème et de la rougeur locale, accompagnée de douleur dans 1,4 % seulement des cas. Les réactions générales se manifestèrent dans 1,4 % des cas par des poussées fébriles aux environs de 38°. La deuxième injection détermine les mêmes réactions locales (16,8 % des cas) et générales (2,8 % des cas). On note un cas de typhus bénin apparu le lendemain de cette deuxième séance. La troisième injection détermine 9 % seulement de réactions locales, et 2,6 % de réactions fébriles légères. Il est à noter qu'on peut observer un cas de sycosis mentonnier après la première injection, un cas d'eczéma après la seconde injection, un cas de furonculose et une récurrence de fistule tuberculeuse après la troisième injection. Sur 2.036 vaccinations pratiquées dans un faubourg de Tunis, 531 seulement purent être poursuivies jusqu'à la troisième injection, mais les réactions locales et générales furent du même ordre.

P. Durand a observé dans son laboratoire un cas de typhus, d'ailleurs très bénin, survenu lui aussi le lendemain de la deuxième injection, chez un sujet très exposé à une contamination massive.

APPLICATION PRATIQUE DE LA MÉTHODE

D'après Royer, dans sa thèse, il avait été pratiqué jusqu'en Septembre 1941, 11.277 vaccinations dont 6.233 en Algérie, 3.527 en Tunisie, 1.153 en Espagne.

D'ores et déjà, on peut affirmer la parfaite innocuité de cette vaccination, en raison du très faible pourcentage des réactions et de leur bénignité constante. Cette vaccination provoque en effet bien moins de complications que la vaccination antitypho-paratyphoïdique par exemple. Cette considération n'est pas sans intérêt après ce que nous avons dit des réactions provoquées chez les Européens ou chez les Américains par les vaccins murins.

Certes, l'expérimentation de cette méthode a été encore trop restreinte, et il manque encore le recul du temps pour apprécier l'efficacité et la durée de l'immunité en milieu épidémique, mais les nombreux tests de laboratoire auxquels P. Durand et P. Giroud ont fait appel, peuvent déjà nous convaincre de la valeur de leur méthode.

APPLICATION POSSIBLE DE LA MÉTHODE DE P. DURAND
ET P. GIROUD À LA VACCINATION
CONTRE LES AUTRES FIÈVRES EXANTHÉMATIQUES

P. Durand et P. Giroud (1940) (96) ont préparé par la même technique un vaccin contre la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses, par broyage et émulsion dans 10 cc. de sérum dilué formolé, d'un poumon hépatisé de souris infectée.

Sept cobayes mâles reçoivent à 3 ou 4 jours d'intervalle, 3 injections intradermiques de $1/2$ cc. de vaccin à chaque fois. Ils sont ensuite éprouvés par injection intrapéritonéale de $1/20$ cc. à $1/2$ cc. de broyat de caillot sanguin de cobaye infecté ; un seul, ayant reçu $1/2$ cc. de caillot, fit une fièvre modérée de 4 jours et guérit, alors que tous les cobayes témoins, inoculés avec des doses allant de $1/2$ cc. à $1/2.000$ cc. de ce broyat, présentèrent une fièvre dépassant 41° , avec lésions scrotales et mort dans 4 cas sur 12.

Les mêmes auteurs (1940) reprennent ensuite leurs essais en utilisant un vaccin formolé identique (un poumon de souris pour 20 cc.). Sur 6 cobayes vaccinés en trois fois avec 1 cc. de vaccin par voie sous-cutanée, un seul présente trois clochers fébriles à 40° entre le 9^e et le 13^e jour après la dernière injection. L'inoculation d'épreuve pratiquée de la même manière, ne provoque aucune réaction chez aucun d'eux.

Le singe, vacciné de même par 3 injections sous-cutanées de 1 cc. à 5 jours d'intervalle, ne réagit pas à l'inoculation d'épreuve de 1/20 cc. de caillot sanguin broyé, alors que le singe témoin meurt en hypothermie au 11^e jour.

Après ce que nous avons dit sur l'importance des lésions pulmonaires causées également par l'inoculation pulmonaire des virus murins et boutonneux, et sur la richesse de ces lésions en Rickettsies, il est permis de penser que des vaccins pourraient être préparés par la même méthode contre le typhus murin et la fièvre boutonneuse pour être utilisés chez l'homme si la nécessité venait à s'en faire sentir.

TITRE III

Le Vaccin contre le Typhus Exanthématique préparé à l'aide du poumon de lapin

A) BASES EXPÉRIMENTALES

Cette méthode de préparation d'un vaccin contre le typhus est basée sur le même principe que la précédente et s'appuie sur les mêmes bases expérimentales essentielles, exposées déjà à un chapitre précédent.

P. Durand et P. Giroud, à l'Institut Pasteur de Tunis et de Paris, ont d'abord préféré l'emploi de la souris, en raison de la richesse des lésions pulmonaires en Rickettsies, et surtout à cause de la possibilité d'opérer des passages continus de souris à souris, ce qui ne leur avait pas été possible chez le lapin.

Mais un poumon hépatisé de souris pesant 0,30 à 0,40 gr. ne peut fournir que 20 à 30 cc. de vaccin. Par cette technique, on ne peut donc pas encore parvenir à une production très importante, capable de subvenir à des besoins considérables, tels que

ceux qui pourraient se manifester lors d'une épidémie massive.

P. Durand, à l'Institut Pasteur de Tunis, continue à utiliser la Souris, ainsi que les rongeurs du bled. P. Giroud, à l'Institut Pasteur de Paris, a utilisé d'abord 5.000 souris. Mais depuis qu'il se sert du lapin, il a utilisé jusqu'à l'heure actuelle 1.700 de ces animaux, chaque poumon de lapin permettant de produire un litre de vaccin. C'est dire que l'emploi de cet animal permet une production bien plus intéressante.

P. Durand et P. Giroud (1941) ont d'abord pratiqué la récolte des Rickettsies sur poumon de lapin en inoculant cet animal à l'aide d'une souche constamment entretenue sur poumon de souris (88).

Si l'on parlait d'un produit sec, il fallait entièrement réadapter le virus sur la souris avant de passer au lapin. Mais il fallait au moins 1 poumon de souris pour infecter convenablement le lapin, ce qui obligeait à traiter deux animaux au lieu d'un seul, et rendait la technique de préparation du vaccin d'autant plus coûteuse et laborieuse.

De plus, le passage de la souris au lapin nécessitait l'emploi de poumons de souris particulièrement riches en Rickettsies et produisait dans le poumon du lapin des Rickettsies surtout intracellulaires, relativement peu nombreuses dans le liquide d'œdème, et parfois peu abondantes par rapport à l'importance de l'hépatisation pulmonaire. Si le la-

pin résistait un tant soit peu, on n'observerait plus que des corps homogènes intracellulaires.

Il fallait donc adapter le virus au lapin

ADAPTATION AU POUMON DU LAPIN DES RICKETTSIES DU TYPHUS HISTORIQUE

Cette adaptation est le fruit des longues et patientes recherches de P. Giroud et de son collaborateur R. Panthier (1941-42) (97). Grâce à cette adaptation, on peut éviter les passages sur souris, obtenir un développement plus massif des Rickettsies dans le poumon du lapin, et, par suite, un pouvoir antigénique d'autant plus grand que le lapin n'oppose plus la même résistance au virus.

A partir de la souche pulmonaire de virus historique entretenue sur souris, au cours des passages successifs de lapin à lapin, la gravité de la maladie décroît progressivement et l'importance de la récolte des Rickettsies diminue : dès le deuxième passage, on n'observe plus guère sur frottis que des corps homogènes, aspects traduisant la réaction cellulaire locale. Il fallait donc abaisser la résistance du lapin.

Abaissement de la résistance du lapin

On sait que le passage cerveau-péritoine du virus historique chez le cobaye provoque au 7^e-8^e jour, l'apparition d'une fièvre typhique qui dure jusqu'au 15^e jour.

P. Giroud (1936) (87) inocule par cette techni-

que 4 cobayes soumis depuis 4 jours à un régime carencé (avitaminose C). Il provoque ainsi chez la moitié de ces animaux, après 5 jours d'incubation seulement, un typhus mortel en 2 ou 3 jours. Si le régime de carence est établi le jour même de l'infection, il obtient, sur 17 cobayes, 2 cas d'orchite. Le régime de précarence favorise l'apparition de cette orchite dans 1 cas sur 10. De même l'inoculation de cerveaux de souris infectées soumises à un régime normal ne produit qu'une maladie inapparente, alors que l'inoculation de cerveaux de souris carencées infecte le cobaye et produit parfois la mort.

Il n'est pas non plus sans intérêt, d'ailleurs, de remarquer avec P. Giroud (1936) que l'état de carence C fait disparaître chez le cobaye l'immunité acquise par une infection antérieure (87).

C'est en partant d'ailleurs du même principe d'affaiblissement de la résistance, que Zinsser, pour obtenir sur vaginales de rats une plus grande récolte de son virus orchitique, soumettait ses animaux à des injections répétées de benzol (45) ou à une irradiation massive (46).

Mais il existe bien d'autres procédés pour abaisser la résistance d'un organisme animal, et particulièrement celle du lapin, animal physiologiquement peu réceptif à l'infection typhique. C'est ainsi que pour augmenter la réceptivité de cet animal, on peut le soumettre à des injections intrapéritonéales répétées de sang, d'extrait globulaire ou orchitique, ou de doses massives d'antigène tué (suspension de

bacilles T.A.B. par exemple). On peut encore utiliser des lapins paralysés, enduits de collodion, irradiés ou splénectomisés, ou encore des lapins éthyroïdés ou saignés (P. Durand et P. Giroud). Castañeda utilisait des lapins anesthésiés par injections intraveineuses de Dial (83).

Ces derniers procédés, d'ailleurs, ont pour effet commun d'abaisser la température du lapin. Aussi sembla-t-il plus simple à P. Giroud d'obtenir ce résultat par simple exposition du lapin tondu dans une enceinte refroidie. A l'action du froid, on ajoute l'action d'injections intrapéritonéales de vaccin T.A.B. chauffé, injections qui ont pour effet, aussi bien que l'irradiation ou la splénectomie, de bloquer l'activité du système réticulo-endothélial, et favorisent ainsi la fixation du virus typhique au niveau du poumon.

Ces injections sont pratiquées à intervalles plus ou moins rapprochés selon chaque lapin ; on se base pour cela sur son aspect, sa température et son amaigrissement.

Par cette méthode, on peut conserver une souche de typhus historique par passages continus sur poumon de lapin. Le lendemain de l'inoculation intra-trachéale, la température de l'animal s'élève à 40° ou 40°5, puis elle s'abaisse progressivement et l'animal succombe au 4° ou 5° jour. Il n'y a pas intérêt à trop précipiter l'évolution de la maladie expérimentale. Si l'évolution est trop brutale, l'animal mourant au 2° ou 3° jour, les poumons ne pèsent

que 12 à 15 gr. au lieu de 30 à 50 gr., poids moyen des poumons obtenus ordinairement. Aussi, diminue-t-on progressivement au cours des premiers passages les quantités inoculées ; de même les injections bactériennes chauffées sont rendues moins fréquentes ou même sont suspendues.

De plus, il est bon de sacrifier les animaux à la phase préagonique, pour éviter la dissémination des germes banaux qui se produit dans la circulation au cours des dernières heures qui précèdent la mort.

EXAMEN DES LÉSIONS PULMONAIRES

a) *Examen macroscopique*

Ces poumons de lapin d'un poids moyen de 30 à 50 gr., mais allant parfois jusqu'à 70 gr., présentent des aspects assez différents selon les cas : simple congestion, œdème blanchâtre, hépatisation rouge ou lardacée, ce dernier aspect étant tout à fait spécial, caractéristique. De toute façon, les lésions broncho-pneumoniques banales ont une coloration bien plus foncée.

b) *Examen microscopique*

Sur coupes, après fixation en Zenker-formol et coloration par une technique dérivée de celle de Macchiavello, on observe qu'alors que dans le poumon de souris les Rickettsies ne se développent presque que dans les cellules, dans le poumon du lapin elles

se développent aussi dans les travées intercellulaires et dans le liquide d'œdème.

Sur frottis, on observe que la quantité des Rickettsies est comparable à celle d'un poumon de souris.

Les frottis sont colorés par la méthode de Macchiavello. En raison de l'abondance de la sérosité œdémateuse dans cet organe, le fragment de poumon examiné est d'abord essoré dans du papier buvard, puis appliqué par décalque en plusieurs points sur lame sèche. La lame est séchée 10 minutes à 37°, puis, non fixée, elle est colorée 10 minutes en cuve Borrel par la fuchsine basique à 0,25 %, décolorée à l'acide citrique puis recolorée rapidement au bleu de méthylène.

Importance de l'aspect morphologique des Rickettsies

P. Giroud et R. Panthier (1941) étudiant les formes d'évolution des Rickettsies, ne croient pas, contrairement à Donatien et Lestoquard (98) qu'il existe de cycle évolutif. Ils montrent au contraire (99) que l'aspect des Rickettsies est fonction de leur végétabilité dans les tissus qu'elles parasitent.

Les Rickettsies sont normalement bacilliformes ; c'est là leur forme de multiplication rapide, comme on peut l'observer *in vivo* et même *in vitro*.

A côté de cet aspect classique, on peut observer, à chaque fois que l'organisme résiste au virus, d'autres formes qui sont : les corps granuleux, véritables

agglutinats de Rickettsies, de 1 à 5 μ de diamètre, colorés en rouge par la fuchsine et redonnant des Rickettsies par broyage ; les corps homogènes, véritables billes intra-cellulaires, rouges-rubis, de 1 à 2 μ de diamètre, appartenant à une phase d'agglutination des Rickettsies, phase qui s'accompagnerait de condensation et de coagulation dues à la défense cellulaire locale ; les enclaves roses, de 1 à 2 μ de diamètres, et les corps punctiformes. Il s'agit là de formes d'involution comme il est banal d'en observer en microbiologie.

P. Giroud et R. Ranthier (1941) (100) considèrent d'ailleurs qu'il faut tenir un grand compte, non seulement de la forme, mais aussi de l'affinité tinctoriale des Rickettsies colorées selon la technique de Macchiavello. Les Rickettsies, comme d'ailleurs la plupart des germes microbiens, montrent pour la fuchsine basique une affinité d'autant plus grande que leur vitalité est plus grande. Les formes colorées en mauve, et surtout celles qui prennent le bleu, sont peu infectantes et dotées par conséquent d'un pouvoir antigène faible, surtout lorsqu'elles ne revêtent pas l'aspect bacilliforme classique.

Or, on observe qu'un frottis de poumon de lapin est d'une richesse en Rickettsies comparable à celle d'un poumon de souris ; les corps homogènes, qu'on observait fréquemment en utilisant le passage souris-lapin, sont ici très rares. Les Rickettsies bacilliformes sont prédominantes et sont généralement colorées en rouge. On observe aussi quelques corps

intra-cellulaires bleus-violetes ; petites raquettes, petits anneaux de $0,5-1 \mu$, et de petits bâtonnets.

POUVOIR PATHOGÈNE DU POUMON DE LAPIN

On peut déjà, a priori, supposer qu'il est élevé, puisqu'on peut, à l'aide d'une suspension de poumon de lapin, réaliser des passages continus sur cet animal naturellement peu réceptif.

Pouvoir pathogène pour la souris

Il est intéressant de l'étudier pour s'assurer que le passage sur le lapin n'a pas modifié le virus. La souris inoculée par voie nasale avec une suspension de poumon de lapin, meurt du 2° au 6° jour comme après passage direct de souris à souris. Les poumons de souris les plus riches en Rickettsies sont même ceux qu'on obtient par inoculation de poumon de lapin, même lorsque cet organe a été conservé à — 25°.

Pouvoir pathogène pour le cobaye

L'inoculation péritonéale au cobaye d'une suspension de poumon de lapin montre à P. Giroud et R. Panthier (1942) (101) que la virulence de cet organe est tout aussi importante que celle du poumon de souris : la maladie se déclare après une incubation de moins de 24 heures. Une périorchite apparaît vers le 4° ou 6° jour ; pendant plusieurs jours, les testi-

cules ne descendent pas bien dans les bourses, signe qui traduit une réaction péritonéale. Puis la fièvre s'atténue, pour reprendre vers le 10^e ou 11^e jour, avec d'autant plus d'intensité que la maladie initiale était moins grave. Dans les cas très graves — et ils sont fréquents — la mort survient en quelques jours, après un amaigrissement de 150 à 200 gr.

Tous les organes abdominaux sont congestionnés ; les testicules, les vaginales, la rate, sont recouverts d'un exsudat particulièrement important et particulièrement riche en Rickettsies au niveau de ce dernier organe. Les poumons sont hépatisés et contiennent de nombreuses Rickettsies.

L'inoculation cutanée par scarification de la peau rasée avec une dilution de poumon de lapin à 1/10, produit un typhus qui rappelle la maladie classique du cobaye : après une incubation de 8 à 10 jours, entrecoupée d'une courte réaction fébrile à 40° le 4^e jour, la température s'élève à 40° pendant 7 à 10 jours, sans réaction péritonéale.

POUVOIR ANTIGÈNE D'UNE SUSPENSION DE POUMON DE LAPIN

P. Giroud et R. Panthier (1942) (102) le mettent en évidence en comparant chez le cobaye l'immunité provoquée par une suspension formolée de poumon de lapin à l'immunité que confère une maladie grave.

Ils utilisent pour cela 3 lots d'animaux :

Dans le premier lot, les cobayes sont inoculés par injection de 0,1 cc. de caillot sanguin broyé de cobaye, dilué au 1/4 (le sang étant prélevé sur cobaye de passage au 2° jour de la fièvre). La maladie apparaît au 10° jour et dure jusqu'au 17° jour après l'inoculation, et entraîne un amaigrissement de 50 à 120 gr. L'inoculation d'un volume égal de caillot dilué à 1/4.000 (1.000 fois moins) est encore infectante.

Un deuxième lot de cobayes est soumis à une inoculation péritonéale de poumon de lapin. Les animaux présentent la maladie grave précédemment décrite. Sur 15 animaux, 8 seulement survivent. Ceux-ci sont soumis à titre d'épreuve, 12 à 90 jours après la fin de la maladie, à la même inoculation que les animaux témoins du premier lot : 4 ne présentent aucune réaction, les 4 autres ne sont que partiellement immunisés et présentent un à trois jours de fièvre entre le 3° et le 25° jour.

Un troisième lot de 12 cobayes est vacciné par 3 injections sous-cutanées à 7 jours d'intervalle, de 1 cc. de vaccin. Ces animaux sont éprouvés 10, 15, ou 75 jours après la dernière injection, par la même dose du même virus que pour les deux lots précédents. *Trois seulement d'entre eux réagissent* par un simple clocher fébrile à 40° de 24 ou 48 heures, entre le 2° et le 16° jour. (Tableau I.)

TABLEAU I. COBAYES AYANT FAIT UNE MALADIE GRAVE

Numéros des cobayes	Durée de la maladie en jours	Durée de la péri-orchite	Durée de la réaction péritonéale	Nombre de jours écoulés depuis la fin de la maladie	Réaction à l'épreuve en jours	Variation de poids en gr. dep. la durée de l'épreuve
B 63	4-14	2	3	12	0	+ 70
B 60	Mort au 8 ^e jour	3	—	—	—	—
B 64	3-14	2	2	13	40 ^e le 20 ^e jour	+ 40
B 62	3-12	2	3	15	40 ^e les 21 ^e , 24 ^e et 27 ^e j.	+ 60
B 61	Mort au 9 ^e jour	2	—	—	—	—
B 59	Mort au 8 ^e jour	4	—	—	—	—
B 17	5-17	—	13	49	—	0
B 18	4-18	—	12	48	0	0
A 70	5-13	—	2	84	0	100
A 59	Mort au 8 ^e jour	—	—	—	—	—
A 57	Mort au 9 ^e jour	—	—	—	—	—
A 63	3-15	2	1	90	40 ^e le 3 ^e jour.	+ 50
A 62	Mort au 7 ^e jour	—	—	—	—	—
A 61	5-17	—	—	90	40 ^e les 27 ^e et 28 ^e j.	— 60
A 60	Mort au 8 ^e jour	2	—	—	—	—

(Voir, à la page suivante, la suite du tableau I).

TABLEAU I (suite) COBAYES VACCINÉS AVEC L'ANTIGÈNE FORMOLÉ

Numéros des cobayes	Numéro de la suspension	Réaction générale	Réaction locale nodulaire	Nombre de jours écoulés dep. la dernière injection	Réaction à l'épreuve en jours	Variation de poids en gr. pdt la durée de l'épreuve
B 67	F 95 L	0	0	10	0	0
B 55	F 92 L	0	+	15	0	30
B 54	F 92 L	0	+	15	0	30
B 53	F 93 L	0	+	15	0	70
B 56	F 93 L	0	+	15	0	100
B 52	F 94 L	0	+	15	40° le 2 ^e jour	+
B 51	F 94 L	0	+	15	40° les 15 ^e et 16 ^e j.	+
C 24	F 87 L	0	0	70	0	70
A 85	F 87 L	0	0	70	0	50
B 87	F 87 L	0	0	70	40° le 15 ^e jour	+
B 82	F 87 L	0	0	70	0	40
						20

Cette expérience cruciale est peut-être le meilleur test de laboratoire en faveur du pouvoir préventif du vaccin antityphique.

POUVOIR ANTIGÈNE DES EXTRAITS DU POU MON INFECTÉ

Dans la préparation de tous les vaccins (antityphoïdique, antidiphtérique ou autres), les auteurs ont visé à augmenter le pouvoir antigénique par des modifications techniques diverses.

C'est ainsi que dans la préparation du vaccin contre le typhus à base de poumon de souris, P. Durand tue maintenant les Rickettsies par le xanthate au lieu de formol.

Nous avons exposé que dans la préparation du vaccin souris-formol, après élimination des gros débris par trois centrifugations lentes, on pratique une centrifugation rapide prolongée destinée à recueillir les Rickettsies pour reprendre ensuite ce culot terminal dans l'eau physiologique formolée, les liquides surnageants étant ainsi éliminés. P. Giroud, au contraire, élimine les gros débris des suspensions de poumon de lapin par 4 centrifugations lentes, mais il conserve ensuite les liquides surnageants. Cette modification technique est toute récente ; en voici le principe.

P. Giroud 1942) (103) a remarqué, en effet, que l'inoculation par voie nasale ou péritonéale de poumon infecté à la souris, produit des phénomènes immédiats de choc quand on utilise pour cette inocu-

lation des poumons ayant été congelés plusieurs fois. C'est donc que le poumon congelé contient des produits toxiques solubles, provenant des Rickettsies lysées ou sur le point de l'être.

P. Giroud a donc cherché quel pouvait être, après traitement par le formol, le pouvoir antigénique de ces produits toxiques solubles, par rapport au pouvoir antigénique des suspensions de Rickettsies formolées.

Les poumons, après conservation à -25° , sont broyés et dilués en eau physiologique formolée à 0,2 %. Des centrifugations fractionnées successives permettent d'obtenir d'une part les Rickettsies, d'autre part le liquide d'extraction. Les pouvoirs antigéniques respectifs de la suspension de Rickettsies formolées, de l'extrait formolé, de l'extrait chauffé à diverses températures et enfin de l'extrait (chauffé ou non) additionné de Rickettsies, ont été appréciés chez l'homme et chez le lapin : on pratique chez ces sujets 3 injections à 1 semaine d'intervalle de 1 cc. de l'un de ces divers produits, pour éprouver ensuite par le test de séro-protection cutanée les pouvoirs neutralisants des divers sérums ainsi obtenus. Quelques-uns des résultats obtenus par P. Giroud ont été résumés dans le tableau II.

Comme on le voit, l'extrait est un bon antigène, supérieur même aux suspensions de Rickettsies. Le chauffage diminue son pouvoir antigénique, d'autant plus qu'il est plus poussé. Les meilleurs résultats

TABLEAU II

N ^{os} des sérums	Rickett.		Extrait non chauffé		Extrait chauffé						Extrait chauffé à 100° + Rickett.			Extrait + Rickett.		Témoins sérums normaux	
					60°	70°	8	17									
	1	2	3	4	15	16	7	8	17		9	10		5	6	25	26
Dilutions de virus																	
1/1.600 ..	0	±	0	0	0	0	0	+	±		0	0	0	0	0	++	++
1/800	±	+	0	±	±	±	+	++	++		±	±	±	0	0	++	++
1/400	±	+	0	+	+	+	+	++	++		±	±	±	0	0	++	++

Le nombre de croix indique l'importance de la réaction. — Dans les deux dernières colonnes, les sérums 25 et 26 sont des sérums de sujets témoins

sont obtenus par injection du mélange extrait non chauffé + Rickettsies.

P. Giroud a déterminé de plus l'immunité active provoquée. Cinq lots de cobayes sont vaccinés par trois injections sous-cutanées de 1 cc. à une semaine d'intervalle, soit de Rickettsies formolées, soit d'extrait non chauffé, soit d'extrait chauffé, soit de l'un de ces liquides auxquels on a ajouté des Rickettsies, tous ces produits étant formolés à 0,2 %.

L'inoculation d'épreuve est pratiquée 50 jours plus tard, par injection intrapéritonéale de 1 cc. de caillot sanguin de cobaye infecté, broyé et dilué au demi.

Alors que les cobayes témoins font une maladie importante (9 à 10 jours de fièvre avec amaigrissement de 150 à 170 gr.); les cobayes qui ont reçu des Rickettsies ou de l'extrait sont vaccinés et leur poids reste constant ou augmente; les cobayes qui ont reçu l'extrait, chauffé ou non, plus les Rickettsies, sont vaccinés et leur poids augmente; par contre, les cobayes qui ont reçu l'extrait chauffé à 100° font une hyperthermie de 5 à 6 jours avec amaigrissement léger.

De ces expériences, il ressort donc clairement que l'association des deux antigènes, extrait et suspension, augmente le pouvoir immunisant du vaccin. Cette association est d'autant plus intéressante qu'elle ne provoque pas de réaction particulière chez les vaccinés.

*
**

De ces travaux, il résulte que chez le lapin convenablement sensibilisé (tondu, exposé au froid, et soumis à des injections massives répétées d'antigène toxique), l'inoculation par voie trachéale de matériel virulent produit un typhus mortel d'évolution rapide, avec hépatisation pulmonaire massive et que :

1° on peut pratiquer aisément des passages continus de lapin à lapin ;

2° que les lésions pulmonaires sont d'une richesse en Rickettsies comparable à celles du poumon de souris ;

3° que dans ces lésions, les Rickettsies présentent des caractères morphologiques témoignant d'une haute virulence : formes bacillaires, affinité tinctoriale marquée pour la fuchsine basique ;

4° qu'effectivement la virulence du poumon de lapin est très élevée et égale à celle du poumon de souris, comme le prouvent en particulier les effets de l'inoculation de poumon de lapin par la voie nasale à la souris, par les voies péritonéale et cutanée au cobaye ;

5° que trois injections successives de suspension formolée de poumon de lapin protègent le cobaye, tout comme une maladie grave, contre l'inoculation de plus de 1.000 doses infectantes ;

6° que l'adjonction des produits solubles extraits du poumon de lapin formolé augmente encore considérablement le pouvoir immunisant de cette suspension.

B) CONSIDÉRATIONS TECHNIQUES

TECHNIQUE DE PRÉPARATION DU VACCIN

On emploie parallèlement dans le laboratoire du Dr P. Giroud, deux souches de typhus historique, afin d'élargir le pouvoir antigénique du vaccin, les vaccins tués étant en effet assez étroitement spécifiques. Ces deux souches sont : la souche H.S.P. (souche Tunis-Rabta de Ch. Nicolle) et la souche W 13, isolée à Varsovie par Gildemeister et rapportée de Berlin par M. le Professeur Lemierre.

Jusqu'à ce jour, 59 passages continus de lapin à lapin ont été pratiqués avec la souche H.S.P. et 23 passages avec la souche W 13.

Malgré les passages répétés et la résistance des lapins, l'une et l'autre souches ont gardé le même pouvoir antigène. La souche W 13 se comporte en tous points comme la souche H.S.P.

Inoculation intra-trachéale au lapin de broyat de poumon de lapin

On utilise pour l'inoculation un poumon de lapin dont le frottis coloré par la méthode de Macchia-

vello, montrait une particulière abondance en Rickettsies. Entre deux passages, les souches pulmonaires sont conservées sans inconvénient au frigidaire à -25° . P. Giroud et R. Panthier (1941) ont montré, d'autre part, en effet, qu'à cette température, les souches de typhus peuvent conserver encore toute leur virulence après 570 jours (104).

D'un poumon de lapin riche en Rickettsies, on prélève un fragment de 5 gr. et on le place dans un broyeur spécial (cylindre d'acier garni de billes d'acier et hermétiquement clos). Le broyage est effectué mécaniquement par agitation pendant une dizaine de minutes.

Après ce broyage, l'appareil est rincé avec de l'eau physiologique stérile, le liquide de rinçage étant complété par addition d'eau physiologique stérile jusqu'à avoir 85 cc. d'émulsion pour les 5 gr. de poumon de lapin utilisés. Cette émulsion servira à inoculer 10 lapins. On utilise des lapins adultes d'un poids de 2 à 3 kilos, tondus à la tondeuse électrique au niveau du cou et du thorax. Le lapin est placé dans un cristalliseur fermé garni d'éther. Bientôt endormi, le cou étant mis en hyperextension, on repère l'espace crico-thyroïdien de l'animal. A l'aide d'une seringue remplie de 8 cc. d'émulsion, avec aiguille montée, on pénètre facilement dans la trachée, où l'injection est poussée en 10 à 15 secondes. Chaque lapin reçoit ainsi près de 1/10 de poumon de lapin. Cette opération est pratiquée avec les plus grandes précautions d'asepsie.

En même temps que les lapins, on inocule également sous anesthésie générale à l'éther, deux souris par voie nasale avec 0,2 cc. de la même émulsion de poumon de lapin, pour s'assurer sur ces animaux témoins que la souche a conservé le même degré de virulence.

Exposition des lapins inoculés à la glacière

Après l'inoculation par injection intra-trachéale, les lapins sont remis dans leurs cages respectives et transportés dans une pièce réfrigérée à +5°.

Le lendemain de l'inoculation, et les jours suivants, si les réactions de l'animal ne le font pas juger inutile, ils sont soumis quotidiennement à une injection intrapéritonéale de 2 cc. de germes T.A.B. tués par la chaleur.

Après une élévation thermique transitoire, le lendemain de l'inoculation, la courbe thermique descend progressivement jusqu'en dessous de la normale. L'animal est abattu, apathique, immobile, le poil hérissé ; il ne s'alimente pas, et meurt au 5° ou 6° jour après l'inoculation, avec une température variant de 33° à 30°. Il est préférable d'ailleurs, pour observer les lésions dans leur pureté, sans adjonction des lésions agoniques, de sacrifier l'animal une douzaine d'heures avant l'échéance naturelle de la maladie, c'est-à-dire, en pratique, lorsque la température, surveillée matin et soir, vient à s'abaisser au-dessous de 36°.

L'amaigrissement habituel des animaux est de 600 à 750 grammes.

Prélèvement et examen des poumons

Morts ou sacrifiés, les animaux sont conservés à la glacière et sont autopsiés en série. Après ouverture de la peau et du plastron sterno-costal, les poumons sont prélevés aseptiquement, déposés pour chaque animal dans une boîte de Pétri stérile, et pesés, la boîte étant tarée. Nous avons vu qu'alors que le poids normal d'un poumon de lapin est de 12 ou 13 gr., l'importance des lésions amène ici son poids entre 30, 50 et même 65 gr. On observe et l'on note l'aspect des lésions pulmonaires. Outre le prélèvement des poumons pour utilisation dans la fabrication même du vaccin, l'autopsie vise d'autres buts.

Tout d'abord, celui de contrôler la stérilité bactérienne des poumons du lapin : un petit fragment de chacun des deux poumons est prélevé aseptiquement et écrasé contre la paroi intérieure d'un tube de bouillon. Ce bouillon est lui-même utilisé pour ensemençer des tubes de gélose ordinaire, de gélose-sérum-extrait globulaire et de gélose de Veillon. Habituellement, aucun germe ne se développe. Toutefois, on observe de temps à autre le développement de bactéries banales ou encore de petits germes hémophiles à peine plus gros que les Rickettsies, et se comportant à l'isolement comme le bacille de Pfeiffer. Dès que le développement de ces germes

sera un peu important, le poumon ne sera pas utilisé pour la fabrication du vaccin ; de même il ne sera pas utilisé pour l'inoculation d'autres lapins si l'on observe le développement d'une seule colonie d'un germe quelconque.

Autre opération très importante, on contrôle sur lame la richesse en Rickettsies du poumon prélevé. Le même fragment de poumon qui avait servi àensemencer le bouillon pour le contrôle de stérilité bactérienne, est repris, séché rapidement sur papier buvard et appliqué par décalque sur une lame. Les frottis non fixés (un pour chacun des deux poumons) sont colorés par la méthode de Macchiavello, suivant la technique exposée plus haut. On observe alors, sous le microscope, le degré d'abondance des Rickettsies, leur aspect et leur affinité tinctoriale. On observe d'ailleurs que la richesse du poumon en Rickettsies n'est pas absolument proportionnelle à l'augmentation du poids de l'organe. De ces données, on tient compte pour le choix des poumons qui seront utilisés à l'inoculation de nouveaux lapins.

Broyage des poumons et préparation de l'émulsion

Ces opérations sont pratiquées en grand lorsqu'on dispose d'un nombre de poumons suffisant. Entre temps, ils sont conservés au frigorigène à -4.25° .

Le broyat de poumons de lapins, inoculés moitié avec la souche W, moitié avec la souche H.S.P., sont broyés dans un broyeur du type Latapie. Le broyat

est recueilli aseptiquement au fur et à mesure de son écoulement et mélangé à du sérum de cheval dilué à 1/5 en eau physiologique stérile phosphatée — (pH = 7,2), à raison de 30 gr. de poumons par litre. Le mélange est additionné de formol du commerce à raison de 0,2 %.

L'émulsion obtenue, répartie en pots à centrifuger, est soumise à 4 centrifugations successives lentes d'une dizaine de minutes chacune pour éliminer les gros débris. On est alors en possession du vaccin, que l'on conserve 5 jours à la glacière à + 4° avant toute utilisation.

Comme on le voit, les liquides d'extraction ne sont pas rejetés comme dans la préparation du vaccin à base de poumon formolé de souris. Cette modification de technique, quoique toute récente, a une grande importance, étant donné le pouvoir antigène de l'extrait.

Quoi qu'il en soit, le vaccin ainsi préparé est soumis à de nouveaux examens.

On contrôle la stérilité par de nouveaux ensemencements en bouillon, gélose-sérum-extrait globulaire et gélose de Veillon. On pratique un contrôle de toxicité par injection sous-cutanée de vaccin, à la dose de 2 cc. chez des souris, de 10 cc. chez des cobayes, et l'on suit l'évolution de leur courbe thermique, ce qui permet de s'assurer que le vaccin est bien dénué de virulence.

On dose le formol libre par le chlorhydrate de phénylhydrazine.

Enfin, sur une lame, dans un carré de 1 cm. de côté, 1/100 de cc. de vaccin déposé à l'aide d'une pipette étalonnée est séché et coloré par le Giemsa chauffé. L'examen microscopique permet alors d'évaluer approximativement la richesse de l'émulsion en Rickettsies.

DANGER DES CONTAMINATIONS DE LABORATOIRE

Il est facile, d'après ce qui précède, de se faire une idée du danger que représente le travail dans un laboratoire où l'on emploie un matériel aussi virulent que le poumon de lapin. Dyer signale ce danger dans une importante étude critique (103). L'inoculation des animaux, qui parfois se débattent entre les mains des opérateurs, qui éternuent quelquefois au cours de l'inoculation ou à leur réveil, la simple manipulation des organes infectés au cours des broyages et des autopsies, exposent à des contaminations massives, tant par la voie oculaire que par les voies respiratoire ou cutanée.

On conçoit donc à quel point sont justifiées toutes les mesures de protection mises en œuvre.

Le laboratoire du typhus, à l'Institut Pasteur de Paris, est un pavillon isolé dont les fenêtres sont garnies de moustiquaires, et dont l'entrée est interdite. Les employés sont vêtus de sarreaux qui ne quittent pas le laboratoire ; ils revêtent une deuxième blouse lors des inoculations et des autopsies,

blouses quine sortent jamais des pièces où ces opérations sont pratiquées. Ils sont en outre continuellement porteurs de lunettes, de masques en tissu épais et de gants.

Nous verrons plus loin quel fut, grâce à la vaccination, le comportement du personnel de ce laboratoire vis-à-vis du virus.

RENDEMENT DE LA MÉTHODE

Avec le concours de deux assistants seulement et de quelques aides de laboratoire, le Docteur Giroud parvient à traiter une centaine de lapins par semaine, compte tenu des difficultés matérielles de l'heure présente, ce qui porte la production mensuelle à plus de 100.000 doses complètes.

Il nous paraît inutile d'insister sur l'intérêt que présente une telle production à une heure où l'attention du Service de Santé s'attache, non sans inquiétude, aux progrès de l'épidémie de typhus dans les camps de prisonniers et à ses ravages en Afrique du Nord.

C'est pourquoi, jugeant cette production encore insuffisante, M. Tréfouël, Directeur de l'Institut Pasteur, vient de favoriser la fondation d'un second centre de production de ce vaccin à l'Institut Pasteur d'Alger, et d'un troisième centre spécialement aménagé en zone non occupée.

LE TEST D'HYPERSENSIBILITÉ CUTANÉE

La production de ce vaccin n'étant cependant pas illimitée, il semblerait indiqué, dans les foyers endémiques où les anciens typhiques, avérés ou méconnus ne sont pas rares, de reconnaître ces sujets déjà naturellement immunisés, pour éviter un gaspillage inutile de vaccin.

Notre Maître le Docteur P. Giroud, après avoir étudié les réactions d'immunité locale chez les animaux, a démontré que chez les hommes antérieurement infectés, il existe un état d'hypersensibilité cutanée à l'injection intradermique de Rickettsies tuées (106).

Il nous a demandé de tenter les mêmes essais avec un antigène de typhus épidémique nord-africain sur des sujets qui avaient été infectés avec un virus de l'Est.

M. le Médecin-Colonel Poirier, de l'Hôpital militaire du Val-de-Grâce, et M. le Médecin-Lieutenant-Colonel Hassenorder, Médecin-Chef de l'Hôpital militaire Bégin, ont bien voulu nous permettre l'accès de leurs services pour y tenter cette recherche.

Nos essais ont porté sur 10 anciens typhiques rapatriés d'Allemagne, qui avaient présenté cinq à six mois auparavant des typhus tous très sévères ; périodes fébriles de 14 à 22 jours avec température s'élevant parfois jusqu'à 40°6, exanthèmes intenses; et

stupeur profonde dans tous les cas ou même coma prolongé.

Sur ces 10 sujets, nous avons donc pratiqué à la face antérieure de l'avant-bras une injection intradermique de 2/10 de cc. de cet antigène (suspension F 125 L : Rickettsies + extrait cellulaire).

Cette inoculation a provoqué des réactions intenses au point de l'injection. Après une douleur de quelques minutes due à la présence de formol dans la suspension il est apparu vers la 12^e heure une plage érythémateuse intense et étendue, maxima de la 24^e à la 48^e heure. Cet érythème a toujours mesuré dans sa plus petite dimension au moins 1,5 cm. et jusqu'à 4 cm., et environ le double dans sa longueur.

En même temps que l'érythème, un œdème manifeste se développait dans l'épaisseur du tégument, surélevant la peau légèrement. Nous avons cherché à apprécier l'importance de cet œdème par mensuration au pied à coulisse de l'épaisseur du pli de pincement cutané, par comparaison à l'épaisseur mesurée avant l'épreuve. L'œdème est maximum entre la 36^e et la 48^e heure. L'épaisseur de la peau est généralement doublée et parfois même quintuplée. En même temps, le sujet éprouve une sensation de tension douloureuse parfois assez vive.

Nous avons désigné dans le tableau ci-contre (tableau III) le résultat de nos expériences.

TABLEAU III

TEST D'HYPERSENSIBILITÉ CUTANÉE

Convalescents de Typhus

	AVANT	1 ^{er} JOUR	2 ^e JOUR	3 ^e JOUR	4 ^e JOUR
	(en centimètres).				
C. 1 ^o épaisseur du pli du pin- cement cutané	0,5	3	2,3	2,2	2,2
2 ^o larg ^r mi- nima de l'éry- thème		4	5	2	0
B. pli cutané...	0,5	0,7	0,8	0,6	0,5
érythème ...		2	discret	0	0
Z. pli cutané ..	0,4	0,7	0,4	0,4	0,4
érythème ...		2,5	0	0	0
A. pli cutané ..	0,4	0,7	0,6	0,6	0,5
érythème ...		1,5	0	0	0
L. pli cutané ..	0,5	1,2	1,1	1	1
érythème ...		2	0	0	0
M. pli cutané ..	1,2	1,5	1,3	1,3	1,2
érythème ...		2,5	1,5	0	0
G. pli cutané ..	0,3	1	1,1	0,7	0,4
érythème ...		2	3	discret	0
Ch. pli cutané..	0,5	0,9	0,7	0,5	0,5
érythème ...		2	discret	0	0
R. pli cutané ..	0,4	1	1,1	0,9	0,8
érythème ...		3	discret	0	0
S. pli cutané ..	0,4	1,2	1	0,6	0,5
érythème ...		3	2,5	0	0

Sujets Témoins

		AVANT	1 ^{er} JOUR	2 ^e JOUR	3 ^e JOUR
Pon...	pli cutané	0,5	0,6	0,5	0,5
	érythème.		discret	o	o
L...	pli cutané	0,5	0,5	0,5	0,5
	érythème.		o	o	o
Pou...	pli cutané	0,6	0,7	0,7	0,6
	érythème.		1	discret	o
Ch...	pli cutané	0,5	0,6	0,6	0,5
	érythème.		o	o	o
C...	pli cutané	0,5	0,6	0,5	0,5
	érythème.		o	o	o
F...	pli cutané	0,6	0,7	0,7	0,6
	érythème.		discret	discret	o

Par comparaison et pour éliminer toute erreur pouvant provenir de la présence de débris pulmonaires ou de formol dans la suspension, nous avons pratiqué la même épreuve par une injection identique de la même suspension (F 125 L) à 6 sujets convalescents d'affections bénignes (rougeole, scarlatine, angines banales). Nous n'avons obtenu, de façon inconstante d'ailleurs, qu'un érythème très pâle, peu étendu. L'œdème, mesuré de la même manière, était pratiquement nul.

Il serait certes intéressant d'étudier les résultats que pourrait fournir au point de vue diagnostique l'emploi de ce test d'hypersensibilité cutanée.

RÉACTIONS VACCINALES

Les réactions consécutives à l'injection de suspension formolée de poumon de lapin sont du même ordre que celles qu'entraîne la vaccination à l'aide de suspension formolée de poumon de souris. Elles sont fort bénignes.

M. le Médecin-Capitaine Masson, de la Direction du Service de Santé de Paris, a bien voulu nous communiquer les rapports suivants :

OBSERVATION I.

Vaccination de 57 employés de l'Hôpital militaire Bégin, dont 24 femmes, par trois injections sous-cutanées de 1 cc. à une semaine d'intervalle. La première injection est immédiatement suivie de douleur, persistant quelques minutes. Trois cas de céphalées le soir même de l'injection.

Après les 2^e et 3^e injections, la douleur locale est plus vive, et les sujets éprouvent assez souvent de la fatigue générale dans les 24 ou 48 heures qui suivent. Après chacune de ces deux dernières injections, 5 sujets durent se reposer 24 heures (?), ayant présenté le soir de l'injection une température n'excédant jamais, il est vrai, 38° ou 38°4.

Chez les femmes, on a pu noter des troubles du cycle menstruel. Dans un cas, la première injection pratiquée 2 jours après la fin des règles, aurait provoqué leur réapparition, pour une durée de 12 jours malgré l'absorption de 12 gr. de Cl^2Ca en 4 jours, puis de vitamine C et d'arrhémapectine. Dans les cas où l'injection vaccinale était pratiquée durant les règles, celles-ci se prolongeaient également 10 à 15 jours. Le sang était épais, noir et poisseux, sans tendance à la for-

mation de caillots. Enfin, dans les autres cas, la vaccination aurait entraîné constamment une avance de 10 jours dans l'apparition du flux menstruel. Aucune de ces femmes n'aurait présenté antérieurement de troubles de ce genre.

OBSERVATION 2.

A l'Hôpital militaire d'Amiens, au cours de la vaccination de 26 sujets, on observa quelques poussées à 37°8 ou 37°9 le soir de l'injection, et dans 6 cas un œdème local avec halo rouge, sans adénopathie, disparaissant en 48 heures.

OBSERVATION 3.

A l'Hôpital militaire de Rouen, sur 6 vaccinés, on n'observe aucune réaction générale, sauf une poussée fébrile à 38°2 chez un ancien paludéen. Aucune réaction particulière chez une hépatique ancienne astreinte à un traitement continu.

Sur plus de 1.000 vaccinations pratiquées en Espagne par M. le Professeur Lemierre lui-même, aucune réaction notable n'a été observée en dehors de 3 cas de zona intercostal.

Nous mêmes avons pu observer le cas suivant à l'Hôpital de l'Institut Pasteur sur la personne d'un de nos confrères ; ce cas est d'ailleurs tout à fait exceptionnel.

OBSERVATION 4.

B..., 26 ans. Les 2 premières injections sont pratiquées à une semaine d'intervalle. Après la 2^e injection, apparition d'un impétigo du pavillon de l'oreille, résistant au traitement

habituel et s'étendant vers le cou. Néanmoins, la 3^e injection est pratiquée 15 jours après la précédente. Elle entraîne l'apparition de phénomènes plus sérieux : invasion de tout le cou, de l'autre oreille et de la face. Les lésions prennent ensuite le type d'eczéma streptococcique. Après les repas, prurit intense et poussées œdémateuses violentes de la face, ainsi que des mains et des avant-bras où les lésions sont analogues. Les selles sont décolorées, les urines normales.

La phase aiguë de la maladie est guérie après trois semaines de traitement (régime lacto-végétarien, auto-hémothérapie, opothérapie hépatique). Il est à remarquer que ce sujet n'avait jamais présenté ni impétigo, ni furonculose, mais qu'il était sujet à des poussées urticariennes fréquentes, et que les lésions siégeaient uniquement aux parties découvertes chez un blond.

Il semble donc, d'après cette observation, qu'il y aurait parfois intérêt à s'assurer, par injection intradermique préalable de 1/10 à 1/20 cc. de vaccin, que la vaccination sera bien tolérée (cette épreuve ne devant entraîner normalement aucune réaction locale), et que d'autre part, il ne faille pas espacer les injections de plus d'une semaine, pour éviter des réactions allergiques dues vraisemblablement à la présence des protéines étrangères contenues dans le vaccin.

Vaccination dans une collectivité allemande (nombre de sujets vaccinés non précisé) : on observa un cas de rougeur locale avec œdème et trois cas de douleurs articulaires localisées à l'épaule et au coude, apparues 2 ou 3 jours après la première in-

jection ; dans l'un de ces trois cas, chez un ancien rhumatisant articulaire, les douleurs étaient assez violentes (surtout la nuit) et limitaient les mouvements articulaires de l'épaule et du coude.

D'autre part, répondant au vœu du Service de Santé militaire, M. le Professeur Lemierre a bien voulu, assisté de M. le Médecin-Commandant Sohier, Professeur agrégé du Val-de-Grâce, se rendre en Allemagne en Janvier 1942, pour visiter les camps de prisonniers français où des cas de typhus s'étaient déclarés.

C'est grâce à leur haute intervention que les autorités militaires allemandes de Berlin ont accepté l'application de la vaccination antityphique dans les camps, sous la responsabilité du Service de Santé français. 45.000 doses de vaccin ont pu ainsi être envoyées par le Docteur P. Giroud dans les camps entre Décembre 1941 et Mai 1942.

Notre Maître M. le Docteur Giroud a bien voulu nous confier les fiches de vaccinations qu'il a pu recevoir des camps de prisonniers en Allemagne. De l'examen de ces fiches, nous avons pu tirer les conclusions suivantes. Globalement, sur le total des 4.156 fiches reçues, il a été relevé 45 cas de réactions locales légères (1 % des cas) : rougeur, œdème, adénopathie cervicale, sans autre signe particulier.

Comme réactions générales, on peut relever 52 cas de réactions fébriles simples (1,2 % des cas) ; ces réactions fébriles furent toutes aux environs de 38°, sauf un cas à 38°5 et deux cas à 40°. Elles ne durè-

rent jamais plus de 24 heures, sauf dans un cas où la fièvre persista 4 jours entre 38°5 et 39°, chez un sujet qui présentait d'ailleurs des réactions analogues après vaccination antityphoïdique. Ces réactions fébriles étaient presque toutes uniques et survenaient plutôt après la 1^{re} ou la 2^e injection.

En outre, il est signalé 5 cas de syncope ou de manifestations diverses de choc (nausées, vertiges, bourdonnements d'oreilles, sueurs froides) chez des sujets peut-être sous-alimentés ou pusillanimes; 1 cas de douleurs lombaires avec hématurie microscopique, 1 cas d'albuminurie transitoire, 1 cas d'ictère et 1 cas de réaction douloureuse vésiculaire. Une douzaine de cas d'oreillons seraient apparus en cours de vaccination.

En résumé, les réactions consécutives à cette vaccination sont bénignes et excessivement rares. Localement, elles se bornent à une sensation momentanée de cuisson, avec parfois un peu d'œdème et de congestion locale; sans aucune impotence fonctionnelle. Les réactions générales sont très rares aussi, et se bornent à une petite asthénie le lendemain des injections, un état subfébrile durant toujours moins de 24 heures ou des manifestations cutanées diverses. Toutefois, chez la femme, les troubles du cycle menstruel semblent assez fréquents, et consistent en un allongement ou une précocité anormale des règles.

C) GARANTIES PRÉSENTÉES PAR LE VACCIN A BASE DE POU MON DE LAPIN

Au cours de la préparation du vaccin, on s'entoure de contrôles divers permettant de s'assurer que celui-ci répond bien aux indications des principes énoncés plus haut.

CONTRÔLE MICROBIOLOGIQUE

Nous avons signalé plus haut l'importance, bien mise en évidence, par notre Maître le Docteur P. Giroud, de l'aspect morphologique des Rickettsies, aspect qui traduit leur virulence et leur pouvoir antigénique (99-100).

Les poumons du lapin, examinés sur frottis, doivent être et sont effectivement très riches en Rickettsies bacilliformes, le plus souvent colorées en rouge. Les formes de résistance sont très rares.

Enfin, la numération des Rickettsies dans les émulsions, si approximative soit-elle, permet d'assurer aux dites émulsions une concentration en virus sensiblement constante. C'est aussi dans cet esprit que vingt poumons de lapin au moins sont utilisés dans la fabrication d'une seule et même émulsion.

CONTRÔLE DE STÉRILITÉ BACTÉRIENNE

Nous avons vu comment, au cours de la fabrication, on contrôle la stérilité de chaque poumon de lapins inoculés, de même que celle des émulsions formolées après 5 jours de conservation à la glacière. Aucune complication septique locale n'est donc à redouter après une vaccination correctement pratiquée.

CONTRÔLE EXPÉRIMENTAL ;

ÉPREUVES SUR LES ANIMAUX DU LABORATOIRE

Nous avons exposé comment la virulence du poumon de lapin est contrôlée par inoculation respiratoire à la souris.

De plus, les émulsions formolées sont, après conservation de 5 jours à la glacière, inoculées à doses massives aux animaux d'épreuve : injection par voie sous-cutanée de 2 cc. de vaccin à la souris, de 5 et 10 cc. à des cobayes. Les animaux ne présentent qu'une poussée thermique passagère, inconstante d'ailleurs, le lendemain de cette épreuve, due à l'introduction des protéines étrangères, mais aucune réaction fébrile tardive, ce qui montre bien que les Rickettsies formolées ne sont pas vivantes. Aucun cas de typhus vaccinal ne peut donc survenir.

D'autre part, le pouvoir antigène de la souche est contrôlé de temps à autre par vaccination du co-

baye. On s'assure ainsi que la souche n'a pas varié et qu'elle a conservé son pouvoir antigénique.

Enfin, d'autres expériences du Docteur P. Giroud, non encore publiées, lui ont permis de s'assurer qu'après une conservation de près de deux ans, ses émulsions formolées conservent encore leur pouvoir antigénique pour le cobaye. Ceci prouve que le vaccin peut être stocké. Or, nous avons vu plus haut que les vaccins par virus vivant ne peuvent être conservés au delà de quelques semaines. Il s'agit donc là d'un avantage très considérable.

CONTRÔLE SÉROLOGIQUE

La réaction de Weil-Félix pratiquée sur le sérum des vaccinés ne donne qu'inconstamment des résultats positifs. Nous savons d'ailleurs qu'il ne faut pas attacher à ce fait une trop grande importance, cette réaction n'étant pas spécifique et traduisant seulement la présence d'un germe de sortie (90-91).

Plus intéressantes sont donc les indications fournies par le test de séro-protection cutanée locale de P. Giroud. P. Durand, Béguet, Horrenberger et Renoux (107), viennent de publier (1942) les résultats de leurs expériences pratiquées au pénitencier de la Maison Carrée, à Alger, sous le contrôle de M. Ed. Sergent et avec l'assentiment de M. Laigret et de MM. G. Blanc et M. Baltazard. Des prisonniers répartis en 7 lots d'environ 25 sujets chacun, furent

vaccinés par sept méthodes différentes. Trois semaines après la fin de la vaccination, le pouvoir neutralisant de leur sérum fut recherché par le test de P. Giroud, en utilisant deux lapins pour chaque sérum, et en ne retenant que les animaux réagissant nettement à l'inoculation intradermique de 1/32.000 de poumon de souris.

Le résultat de ces expériences, reproduit dans le tableau ci-contre (tableau IV) est que les anticorps neutralisants apparaissent beaucoup plus régulièrement après vaccination par virus morts qu'après vaccination par virus vivants, et que le test de P. Giroud est positif dans 80 % des cas après vaccination par suspension formolée de poumon de lapin. La vaccination par suspension formolée de poumon de souris donne exactement les mêmes résultats.

La vaccination par les Rickettsies du poumon de souris tuées au xanthate donne 95 % de résultats positifs, mais il est très important de remarquer que le vaccin à base de poumon de lapin utilisé par P. Durand et ses collaborateurs ne contenait pas les liquides extraits du poumon de lapin, cette modification technique n'ayant pas été utilisée pour cette expérimentation. Or, nous savons, après les recherches de P. Giroud à ce sujet, combien l'association des Rickettsies à l'extrait pulmonaire renforce le pouvoir antigénique du vaccin.

TABLEAU IV

Vaccins utilisés	Nombre de sujets	Neutralisant le virus avant la vaccination	Sujets valables soumis à l'épreuve	Action neutralisante du sérum après vaccination	Proportion approximative de sérums neutralisants après vaccination
Souris formol : (3 injections)	24	3	21	—	17/21 = 8/10 ou 80,9 %
Lapin formolé : (3 injections)	22 ⁽¹⁾	1	20	2 2	16/20 = 8/10 ou 80 %
Souris xanthate : (3 injections)	24	3	21	4 0	20/21 = 9/10 ou 95 %
Souris xanthate : (2 injections)	19	6	13	1 0	9/13 = 7/10 ou 69 %
BIANC LAIGRET (Scarifications)	27	4	23	3 1	12/23 = 6/10 ou 56 %
LAIGRET (2 injections)	26 ⁽²⁾	1	24	7 4	8/24 = 3/10 ou 33 %
	23	4	19	12 4	8/19 = 4/10 ou 42 %

(1) Un sujet non éprouvé : typhus exanthématique 5 jours après la 3^e injection.

(2) Un sujet non éprouvé : typhus murin vaccinal (contrôlé par les inoculations).

CONTRÔLE ÉPIDÉMIOLOGIQUE :
COMPORTEMENT DES VACCINÉS EN FOYER INFECTÉ

1° *Au laboratoire*

Ainsi que nous l'avions annoncé, il était à prévoir que la manipulation de quantités aussi importantes d'un matériel aussi virulent que le poumon de lapin contaminerait le personnel de laboratoire. Le personnel employé dans le laboratoire du Docteur P. Giroud est vacciné par trois ou quatre injections successives de vaccin ; néanmoins, quelques cas de typhus, tous bénins, se sont déclarés parmi ce personnel. Il était intéressant d'étudier ces cas par comparaison avec ceux du personnel non vacciné. Notre Maître, M. le Docteur R. Martin, a bien voulu nous autoriser à publier ici les observations qu'il a pu recueillir avec ses collaborateurs Vittoz, Sureau et N. Bourcart (1942) (108) ; nous y ajoutons d'autres observations recueillies par M. P. Giroud lui-même.

Observations des sujets pouvant être considérés comme témoins :

OBSERVATION 1.

Mme B., *non vaccinée* (contamination discrète, cette femme ne travaillant pas au laboratoire). Température en plateau 12 jours entre 40° et 40°5. Maladie très grave, avec léger syndrome méningé et éruption discrète. Durée totale de la maladie : 14 jours.

OBSERVATION 2.

La... *non vacciné* (contamination très discrète, ce sujet ne travaillant pas au laboratoire, et n'y ayant fait que deux brefs passages). Durée totale de la maladie : 15 jours. Pendant 9 jours, la température vespérale égale ou dépasse 40°.

Par comparaison, voici un cas de typhus survenu au Stalag IV B, chez un sujet non vacciné infecté par le pou :

OBSERVATION 3.

L... Duré totale de la maladie : 16 jours, dont 8 jours en plateau aux environs de 40°. Petite rechute subfébrile entre le 17° et le 24° jour.

Voici encore deux cas de typhus survenus au laboratoire, sur deux sujets vaccinés par le vaccin de Weigl :

OBSERVATION 4.

P... *Vacciné au Weigl* : 12 jours de fièvre au-dessus de 39°, avec un clocher à 40°3. Eruption discrète. Durée totale de la maladie : 14 jours. Convalescence traînante et pénible.

OBSERVATION 5.

Mlle Th... *Vaccinée au Weigl* : Début de la maladie deux jours après la 3° injection. La température oscille pendant 13 jours entre 39° et 40° et ne revient à la normale qu'au 17° jour.

Tous les cas précédents nécessitèrent 2 à 3 mois de convalescence. Dans les observations qui suivent, que l'on pourra comparer aux précédentes, les sujets avaient au contraire été vaccinés par suspension formolée de poumon de lapin, et travaillaient quotidiennement au laboratoire, où ils manipulaient de grandes quantités de poumons infectés.

OBSERVATION 6.

Mme G... Durée totale de la maladie : 7 jours. Température maxima : 38°7. Pas d'éruption.

OBSERVATION 7.

W... Employé aux inoculations et autopsies des animaux. Se plaignait de céphalées depuis 4 ou 5 jours. Durée totale de la maladie : 8 jours, dont 2 jours seulement au-dessus de 39°. Le malade se promène et va même à la piscine pendant les quatre premiers jours. Eruption très discrète au niveau de l'abdomen, le 5^e jour.

OBSERVATION 8.

G... Employé aux autopsies et inoculations des animaux. Période prodromique de 10 jours marquée par de la fatigue générale. La maladie apparaît après deux courses successives de 80 km. à bicyclette, sans entraînement. Durée totale de la maladie : 10 jours, avec une poussée thermique vespérale à 40°2 le 7^e jour. Eruption discrète apparue le 4^e jour, assez persistante. Léger syndrome méningé.

OBSERVATION 9.

Mlle P... Fatiguée depuis quelques jours. La maladie ne dure que six jours et la fièvre ne dépasse 39° qu'à deux re-

prises. Eruption discrète, céphalées et légère raideur de la nuque.

OBSERVATION 10.

Mlle T... Etat fébrile aux environs de 38° pendant 4 jours avec douleurs scapulaires. Pas d'éruption.

OBSERVATION 11.

B... Employé aux autopsies et inoculations. Après une phase prodromique assez courte, période fébrile aux environs de 38°5, avec deux poussées thermiques au-dessus de 39°. Pas d'éruption.

OBSERVATION 12.

S... Pratique quotidiennement les autopsies et les inoculations. Phase prodromique d'une quinzaine de jours marquée par des signes de sinusite frontale et quelques poussées fébriles à 38° ou 38°5 ; puis apparition d'un exanthème du type éruption alimentaire avec état fébrile moyen, suivi d'une deuxième éruption de type morbilliforme. Quelques jours plus tard, le malade se rendant en convalescence à la campagne, fait une marche à pieds de 11 km. Dès le lendemain, élévation thermique à 39° pendant 4 jours et apparition de taches rosées assez nombreuses. Le malade n'est resté alité que deux jours.

OBSERVATION 13.

H... Employé aux autopsies et inoculations. Epreuve des céphalées depuis quelques jours, puis la température s'élève à 38° ou 38°5 pendant 5 jours ; une seule poussée thermique à 39°5 le 4^e jour, le malade ne s'étant pas encore alité jusque-là. Apparition d'une éruption discrète.

OBSERVATION 14.

Gu... Employé aux inoculations et autopsies des animaux. Céphalées pendant 5 ou 6 jours avant la maladie. Durée totale de la maladie : 12 jours ; le malade ne s'alite qu'au 5^e jour. La température ne dépasse 39° que pendant 6 jours et atteint 40° durant 2 jours. Présence d'une éruption discrète les 6^e et 7^e jours.

OBSERVATION 15.

Ch... Pratique les inoculations et les autopsies. Se sent abattu pendant quelques jours, puis présente 7 jours de fièvre aux environs de 38° ou 38°5. Pas d'éruption.

De l'examen de ces observations, on peut conclure que les atteintes du personnel vacciné étaient, dans l'ensemble, bénignes, que les caractères cliniques de la maladie n'auraient pas permis, le plus souvent, de porter le diagnostic de typhus si, par ailleurs, les contaminations massives auxquelles étaient soumis les sujets n'avaient pu y faire penser. La réaction de Weil-Félix n'était chez tous ces sujets que faiblement positive ou douteuse, et seule l'agglutination des Rickettsies vivantes ou formolées était un signe important en faveur du typhus. Par contre, la longueur de la phase prodromique, l'inconstance de l'éruption, sa discrétion et sa courte durée après une phase prééruptive plutôt écourtée, sont des arguments importants en faveur de l'efficacité du vaccin. La période fébrile était généralement écourtée

et, dans la majorité des cas, la température revenait à la normale environ trois jours après l'éruption ; quelles que fussent l'asthénie et les céphalées, même dans les cas les moins bénins, il n'y a jamais eu de typhus, et la plupart des atteintes ne nécessitaient que quelques jours de convalescence.

Aussi, R. Martin et ses collaborateurs concluent-ils que si le vaccin Durand-Giroud ne met pas absolument à l'abri des contaminations importantes, il donne toutefois une immunité suffisante pour que l'infection massive et répétée évolue comme une affection bénigne ; il est donc permis de penser qu'il peut protéger très efficacement contre les contaminations passagères et discrètes d'une épidémie.

2° *En milieu épidémique*

Le recul du temps manque encore, certes, pour apprécier d'une façon définitive la protection apportée par la vaccination ; il est regrettable que les difficultés actuelles des correspondances n'aident pas la documentation en cette matière. Nous pouvons néanmoins, à défaut d'une vaste statistique, apporter quelques renseignements intéressants permettant de fonder de légitimes espoirs dans le vaccin mis au point par le Docteur Giroud à l'Institut Pasteur de Paris.

Nous avons pu recueillir à la Direction du Service de Santé de Paris les renseignements suivants :

OBSERVATION 1.

Stalag III A. — Dix cas de typhus exanthématique se déclarent, dont un décès. La vaccination étant entreprise, on n'observe plus que :

- 1 cas de typhus sévère et 1 cas moyen après la première injection ;
- 1 cas de typhus moyen après la deuxième injection ;
- 1 cas de typhus bénin après la troisième injection ⁽¹⁾.

OBSERVATION 2.

Stalag I B. — On observe 25 cas de typhus donc 6 décès (entre Novembre 1941 et fin Janvier 1942). La vaccination est entreprise dans ce camp :

- Vaccin de Behring (à l'œuf) : 10 % des cas avec mortalité ;
- Vaccin de Weigl : pas de mortalité.
- Vaccin de Giroud : pas de cas de typhus après vaccination.

Nous même, à l'Hôpital militaire Bégin avons pu recueillir de la bouche de prisonniers rapatriés les renseignements suivants :

OBSERVATION 3.

Stalag IX A. — Parmi les prisonniers français astreints à désinfecter les vêtements des prisonniers russes, 15 cas de typhus graves se déclarent, dont 6 décès. A la suite de cette

(1) N.B. — Cette observation ne signale pas au bout de combien de temps après la troisième injection est apparu ce cas de typhus.

épidémie, le personnel affecté à cette besogne fut vacciné par le vaccin de P. Giroud : aucun cas de typhus ne se serait déclaré par la suite.

On a pu remarquer enfin, d'après les renseignements parvenus à la Direction du Service de Santé, qu'alors que 500 cas de typhus environ, dont plus de 100 décès, s'étaient déclarés dans les camps de prisonniers en Allemagne entre Novembre 1941 et Février 1942, le nombre des cas a diminué très notablement à partir de cette époque, qui marque habituellement une recrudescence des épidémies. L'envoi, entre Décembre 1941 et Mai 1942, de plus de 45.000 doses de vaccin dans les camps d'Allemagne n'est sans doute pas étranger à cette heureuse interruption de l'épidémie.

Du Service Médical du Chemin de Fer Méditerranée-Niger, M. le Docteur P. Giroud a obtenu les renseignements suivants :

OBSERVATION 4.

Le vaccin a été utilisé comme suit : 400 doses à Oujda, 200 doses à Bou-Arfa, 200 doses à Colomb-Béchar, 100 doses à Kénadza.

Aucune réaction appréciable à signaler. Aucun cas de typhus chez les vaccinés (il est vrai que l'épidémie commençait à décroître). Il y avait eu 4 cas européens, et 103 cas indigènes dont 1 décès, pour un effectif de 2.200 Européens et 3.400 Indigènes, uniquement pour Colomb-Béchar. Les indigènes étaient presque tous vaccinés au vaccin vivant.

L'opinion des médecins militaires d'ici est formelle. Le

Médecin-Capitaine V... de Colomb-Béchar a vacciné ici au vaccin vivant : à signaler chez lui 1 cas de typhus, sa propre infirmière affectée au service des typhiques. Le Médecin-Lieutenant B.. de Kénadza signale dans un rapport sur 57 typhiques indigènes, 54 vaccinés au vaccin vivant, avec 12 % de mortalité.

Ces quelques exemples, venant à la suite de tous les critères expérimentaux utilisés par P. Giroud et R. Panthier, confirment donc très sérieusement la valeur de leur vaccin. Ils justifient l'intérêt que le Service de Santé attache à sa production, ainsi que la création nouvellement entreprise de deux nouveaux centres de production de ce vaccin.

D) ADAPTATION POSSIBLE DE CETTE MÉTHODE DE VACCINATION AUX AUTRES FIÈVRES EXANTHÉMATIQUES

P. Durand, P. Giroud et H. Sparrow (85) ont montré dès 1940 qu'il était possible d'obtenir un développement abondant des Rickettsies de la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses dans le poumon du lapin, alors pourtant que la méthode d'abaissement de la résistance de cet animal n'avait pas encore été mise au point.

Ces auteurs inoculent à la souris par voie respiratoire un broyat de vaginale de cobayes infecté de virus pourpré ou un broyat de tiques infectées.

La maladie et les lésions de la souris rappellent en tous points celles qui sont produites par le virus historique ou le virus murin, la mort se produisant en 3 à 5 jours dès le premier passage.

L'inoculation intra-trachéale au lapin, de broyat de poumon hépatisé de souris, produit la mort en hypothermie le 4^e jour. Le poumon présente une hépatisation lardacée avec de très nombreuses Rickettsies.

P. Durand et H. Sparrow en 1940 (84) purent de même, au cours de leurs premiers essais, inoculer le virus boutonneux par voie respiratoire à la souris et au mériion. Il est vraisemblable que le lapin aurait avec ce virus une maladie et des lésions aussi marquées qu'avec les autres virus typhiques.

Il serait donc certainement possible d'obtenir par l'emploi du poumon de lapin des suspensions formolées riches en Rickettsies aussi bien avec les virus pourpré ou boutonneux qu'avec les virus historique ou murin, et par suite de préparer ainsi en grande quantité, si la nécessité venait à s'en manifester, un vaccin contre la fièvre pourprée ou la fièvre boutonneuse.

CONCLUSIONS

1°. — Les vaccins vivants, dont la production peut être abondante mais dont la préparation est délicate, ont rendu de grands services. Leur emploi ne paraît pas cependant dépourvu de dangers, en particulier chez les populations européennes.

2°. — Les vaccins tués, dont l'innocuité est certaine, nécessitent l'emploi de quantités très importantes de virus. Aucune des techniques, d'ailleurs très coûteuses et compliquées employées jusqu'alors, n'avait permis une production de vaccin réellement intéressante.

3°. — La méthode de P. Durand et P. Giroud, par le développement des Rickettsies du typhus historique dans le poumon de la souris, permet de préparer en quantité notablement plus importante un vaccin formolé dont le pouvoir antigénique est très élevé.

4°. — A la suite des recherches de P. Giroud et R. Panthier, cette méthode a pu être adaptée en pratique au poumon du lapin, ce qui permet de réaliser

une production jamais atteinte jusqu'ici pour aucun autre vaccin tué.

5°. — Les réactions vaccinales sont d'une parfaite bénignité.

Le pouvoir immunisant du vaccin, éprouvé sur les animaux de laboratoire, et étudié par la recherche des anticorps du sérum à l'aide du test de séro-protection cutanée locale, est supérieur à celui d'aucun vaccin vivant.

Les premières applications de ce vaccin en Afrique du Nord et dans les camps de prisonniers français en Allemagne, paraissent avoir donné des résultats très satisfaisants.

(Institut Pasteur : Service de fabrication du vaccin anti-rickettsies T.H. — Docteur P. Giroud.)

Vu : *Le Doyen,*
BAUDOIN.

Vu : *Le Président,*
LEMIERRE.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
Gilbert GIDEL.

BIBLIOGRAPHIE

PREMIÈRE PARTIE

- 1) RAYMOND. — Revue Serv. Santé Mil. Mars 1940.
- 2) LEGRAIN. — Soc. Biol. Séance du 19-I-1895, p. 32.
- 3) RAYNAUD. — Essais de sérothérapie contre le typhus exanthématique, 1896. Impr. Zamith. Alger.
- 4) Ch. NICOLLE et CONSEIL. — C. R. Acad. Sciences, 1910, t. 151, p. 598.
— C. R. Soc. Biol. 1920, t. 83, p. 991.
- 5) WEIL et BREINL. — J. Inf. Dis. 1923, t. 33, p. 60.
- 6) P. DURAND. — C. R. Acad. Sciences, 1932, t. 194, p. 1764.
- 7) NICOLLE et BLAIZOT. — Arch. Inst. Pasteur, 1916, t. 30, p. 446.
— C. R. Acad. Sciences, 1916, t. 162, p. 525.
— Bull. Acad. Médecine, 1916, t. 126, p. 95.
- 8) NICOLLE et CONSEIL. — C. R. Acad. Sciences, 1925, t. 181, p. 201.
— Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1925, t. 14, p. 355.
- 9) ZINSSER et RUIZ CASTANEDA. — J. Exp. Méd. 1933, t. 57, p. 391.
— Ibid., 1934, t. 59, p. 471.
- 10) BUSTAMANTE, VARELA et BOSQUE-PICHARDO. — Revista Med. Mexico, 1934, t. 14, n° 223.
- 11) BUSTAMANTE, VARELA et NERI. — Biol. Inst. del Hig. 1932, t. 2, p. 157 (in : Bull. Inst. Pasteur, 1936, t. 34, p. 488).

- 12) P. GIROUD. — Arch. Inst. Pasteur, Tunis, 1935, t. 24, p. 475.
- 13) P. DURAND et BALOZET. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1940, t. 29, n° 4.
— Ibid., 1941, t. 30, n° 1-2.
- 14) NICOLLE et H. SPARROW. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1934, t. 24, p. 461.
— C. R. Acad. Sciences, 1935, t. 200, pp. 876 et 1702.
— Ibid. 1935, t. 201, p. 1524.
H. SPARROW et LUMBROSO. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1929, t. 18, pp. 1 et 20.
H. SPARROW. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1936, t. 25, p. 284.
— Ibid., 1937, t. 26, p. 13.
— Ibid., 1937, t. 26, pp. 2 et 22.
H. SPARROW et MARESCHAL. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1940, t. 29, p. 53.
— Bull. Acad. Médecine, 1938, t. 119, p. 140.
NICOLLE, LAIGRET et H. SPARROW. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1934, t. 23, p. 15.
— C. R. Acad. Sciences, 1930, t. 191, p. 1709.
- 14 bis) NICOLLE, H. SPARROW et CONSEIL. — C. R. Acad. Sciences, 1927, t. 184, p. 859.
— Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1927, t. 16, p. 1.
- 15) RAMSINE. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1929, t. 18, p. 247.
- 16) BLANC, NOURY et BALTAZARD. — C. R. Acad. Sciences, 1935, t. 201, p. 1126.
— Bull. Acad. Médecine, 1936, t. 116, p. 38.
BLANC, NOURY, BALTAZARD et BARNÉOU. — Bull. Acad. Médecine, 1933, t. 110, p. 274.
— Ibid., 1934, t. 111, p. 582.
- 17) BLANC. — VII^e Cong. Féd. Sc. Méd. Alg. Tun. Mar. Alger, Mars 1937.
— Ann. Méd., 1937, t. 42, p. 440.
— Arch. Inst. Pasteur, Maroc, 1937, t. 1, p. 869.
— Acta Conventus Tertii de Tropicis atque Malariae Morbis, Pars I (Amsterdam 1938, p. 511).

- 18) LAURENS, FORT et BERNIER. — Rev. Service Santé Mil.
Février 1939.
- 19) BLANC. — Rev. Hyg. Méd. Prév., 1936, t. 58, p. 252.
- 20) DYER, WORKMANN, GEDER, BADGER et RUMREICH. — U. S.
Pub. Health. Rep. 132, t. 47, p. 987.
- 21) BLANC et BALTAZARD. — C.R. Acad. Sciences, 1936, t. 202,
p. 1461.
— Ibid., 1937, t. 204, p. 1046.
— Bull. Acad. Médecine, 1941, t. 113, p. 126.
- 22) BLANC ET BALTAZARD. — Ibid., 1937, t. 118, p. 166.
— C. R. Acad. Sciences, 1938, t. 207, p. 547.
- 23) BLANC et BALTAZARD. — Rev. Hyg. Méd. prév., 1939, t. 61,
p. 293.
JULLIARD, HÉNAFF et POUBLANC. — Maroc Médical, 1939,
t. 19, p. 1.
- 24) NICOLLE et LAIGRET. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1932,
t. 21, p. 251.
— Ibid., 1933, t. 22, p. 388.
— C. R. Acad. Sciences, 1933, t. 196, p. 587.
- 25) NICOLLE et LAIGRET. — C.R. Acad. Sciences, 1935, t. 201,
p. 372.
— Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1936, t. 25, p. 40.
LAIGRET et R. DURAND. — Ibid., 1936, t. 25, p. 570.
— Ibid., 1936, t. 25, p. 82.
LAIGRET. — Algérie Médicale, 1937, n° 115, p. 397.
- 26) LAIGRET, R. DURAND, BELFORT et LEFAUCHEUR. — Arch.
Inst. Pasteur Tunis, 1937, t. 26, p. 454.
MARINI, BELFORT et R. DURAND. — Algérie Médicale, 1937,
n° 115, p. 381.
- 27) LAIGRET et R. DURAND. — Bull. Acad. Médecine, 1939,
t. 122, p. 84.
LAIGRET. — Bull. Soc. Path. Exot., 1940, t. 23, p. 227.
- 28) LAIGRET, R. DURAND, BELFORT et LEFAUCHEUR. — Bull.
Off. Int. Hyg. publ., 1941, t. 33, p. 182.

- 29) LAIGRÈT. — Bull. Soc. Path. exot., 1940, t. 33, p. 227.
LAIGRÈT, FABIANI et VARGUES. — Bull. Acad. Médecine, 1942, t. 126, p. 390.
- 30) BALTEANU et CONSTANTINESCO. — C.R. Soc. Biol. (Jassy), 1937, t. 124, p. 690.
— Bull. Acad. Méd. Roumanie, 1937, t. 3, p. 299 (in Bull. Off. Int. Hyg. publ. 1937, t. 29, p. 2338).
- 31) DA ROCHA LIMA. — Münch. Med. Wochenschr., 1918, t. 65, p. 1554.
- 32) MARTINI. — Stsch. Med. Wochenschr., 1919, t. 45, p. 654.
- 33) BREINL. — Z. Immunforsch., 1924, t. 41, p. 97.
- 34) DYER, WORKMANN, RUMREICH et BADGER. — Publ. Health. Rep. Wash, 1932, t. 47, p. 1329.
- 35) WEIGL. — Bull. Acad. Polon. Sc. Méd., 1920, p. 25-62.
— Bull. Inst. Pasteur, 1920, t. 18, p. 709.
— Med. Klinik, 1924, t. 20, p. 1046.
— C. R. Soc. Biol., 1930, t. 103, p. 823.
— Bull. Int. Acad. Cracovie, Cl. de Méd., 1930, t. 4, p. 25.
- 36) RADLO. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1937, t. 26, p. 667.
- 37) CHRZANOWSKI et MOSING. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1933, t. 22, p. 347.
- 38) WEIGL. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1933, t. 22, p. 315.
— Ibid., 1937, t. 26, p. 665.
CHODZKO. — Bull. Off. int. Hyg. publ., t. 25, sept. 1933.
SHAHNI PACHA. — Ibid., 1935, t. 27, p. 481.
HERZIG. — Presse Médicale, n° du 15-IV-1939, p. 571.
- 39) TCHANG et LOTSONG. — Trans. Far. East. ass. trop. Méd. 9^e Congrès 1934, t. 1, p. 221.
GADJOS et TCHANG. — The cath. Univ. of Peking Sc. Publ. Janvier 1933.
— China Med. J., 1939, t. 47, p. 219.
BRUYNOGHE. — Les recherches sur le typhus exanthématique dans le nord de la Chine ; 2^e rapport, 20 Septembre 1932.

- 40) NICOLLE et H. SPARROW. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1932, t. 21, p. 25.
- 41) DRBOHLAV. — Bull. Off. int. Hyg. publ., 1938, t.30, p.317.
- 42) MARIANI. — Ann. d'ig., 1939, t. 49, p. 316.
— Minerva Med., 1940, t. 1, p. 418.
- MARIANI et d'IGNAZIO. — Minerva Med., 1941, t.2, p. 145.
- 43) ZINSSER et BATCHELDER. — J. Exp. Med., 1930, t.51, p.847.
- 44) SPENCER et PARKER. — U.S. Pub. Health. Rep., 1925, t.40, p. 2160.
- 45) ZINSSER, R. CASTANEDA et SEASTONE. — J. Exp. Med., 1931, t.53, p.333.
ZINSSER et R. CASTANEDA. — Ibid., 1931, t.53, pp. 325 et 493.
- 46) ZINSSER et R. CASTANEDA. — Pr. Soc. Exp. Biol. Med., 1932, t. 29, p. 840.
- 47) VARELA, PARADA-GAY et AGUAYO. — C.R. Soc.Biol., 1934, t. 117, p. 416.
- 48) CASCO. — Thesis Fac. Med. Mexico, 1932.
- 49) ZINSSER. — Amer. J. Hyg., 1937, t.51, p.847.
- 50) VEINTEMILLAS. — J. Immunol., 1939, t.36, p.339.
- 51) NIGG et LANDSTEINER. — Pr. Soc. Exp. Biol. Med. N.Y., 1930, t.23, p.3.
— J. Exp. Med., 1932, t.55, p.563.
- 52) KLIGER et ASCHNER. — Brit. J. Exp. Path., 1934, t.15, p. 537.
- 53) P. GIROUD et PLOTZ. — C.R. Soc. Biol., 1936, t.121, p.312.
— C.R. Acad. Sciences, 1935, t.200, p.1255.
— Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1935, t.24, p. 470.
- 54) P. GIROUD. — C.R. Soc. Biol., 1936, t.122, p.1071.
- 55) ZINSSER et MACCHIAVELLO. — J. Exp. Med., 1936, t. 64, p. 673.
— Pr. Soc. Exp. Biol. Med. N.Y., 1936, t. 35, p. 84.

- 56) ZINSSER, FITZPATRICK et WEIL. — C.R. Soc. Biol., 1938,
t. 127, p. 229.
— J. Exp. Med., 1939, t.69, p.179.
- 57) ZIA, PANG et LIU. — Amer. J. Publ. Health., 1940, t. 30,
p. 77.
- 58) FITZPATRICK. — Pr. Soc. Exp. Biol. Med. N.Y., 1939,
t. 42, p. 217.
- 59) SATO. — Trans. Jap. Path. Soc., 1931, t.21, p.466.
- 60) ZIA. — Chin. Med. J., 1935, t.49, p.699.
- 61) BRUYNOGUE et JADIN. — C.R. Soc. Biol., 1936, t.121, p.153.
- 62) BARYKINE, KOMPANEEZ, BOTCHAWOSA et BAUER. — Bull. Off.
Int. Hyg. publ., 1938, t.30, p.326.
- 63) COX. — Publ. Health. Rep. Wash., 1938, t.53, p.2241.
— Ibid., 1939, t.54, p.1070.
— Ibid., 1940, t.55, p.110.
- 64) GILDEMEISTER et HAAGEN. — Zbl. für Bakt. Par. Inf.,
1942, t.148, p.259.
- 65) ZINSSER, PLOTZ et ENDERS. — Science, 1940, t.91, p.51.
- 66) WEIL et BREINL. — Z. Immünforsch., 1925, t.37, p.441.
- 67) FUKUDA. — Zbl. Bakt. Originale, 1929, t.115, p.83.
- 68) ANIGSTEIN. — Etud. Inst. Med. Res. F.M.S., 1935, n° 33.
— Zbl. Ges. Hyg., 1936, t.37, p.571.
- 69) MARTINI. — Stsch. Med. Wschr., 1919, t.45, p.654.
- 70) WEIGL. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1937, t.26, p.665.
- 71) NICOLLE. — Revue d'Immunologie, 1935, t.1, p.9.
- 72) MURGATROYD. — Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., Juin
1940, t.34.
- 73) PARRÔT. — Problème de l'immunité dans les Rickettsio-
ses. Thèse, Alger, 1937.
— Arch. Inst. Pasteur, Algérie, 1937, t.15, p.188.
- 74) BLANC et NOURY. — C.R. Soc. Biol., 1936, t.122, p.522.

- BLANC, NOURY et BALTAZARD. — C.R. Acad. Sciences, 1935, t. 201, p. 1126.
— Bull. Acad. Médecine, 1936, t. 116, p. 33.
- 75) LÉPINE et BILFINGER. — C.R. Acad. Sciences, 1934, t. 198, p. 1553.
- 76) NICOLLE et LAIGRET. — Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1936, t. 25, p. 40.
- 77) DANIELOPOLU, LUPU, GRACUUM et PETRESCU. — Bull. Acad. Med., 23 Janvier 1940.
- 78) Ed. SERGENT. — Algérie Médicale, Juillet 1937, p. 401.
LÉPINE. — In : Les ultravirus des Maladies Humaines (par Levaditi et Lépine. Masson, éd., 1938).
- 79) NOURY. — C.R. Soc. Biol., 1938, t. 125, p. 849.

DEUXIÈME PARTIE

- 80) H. SPARROW et LUMBROSO. — Inoculation du typhus exanthématique par voie nasale et conjonctivale. (Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1929, t. 18, p. 1).
- 81) OKAMOTO. — Experimental studies on mice concerning typhus fever. — 1. Demonstration of Rickettsia in fixed tissue sections from organs of mice inoculated with endemic typhus virus ; 2. Demonstration of Rickettsia in mice inoculated with endemic mild typhus fever virus. (Kitasato, Arch., 1937, t. 14, pp. 23 et 99).
- 82) WOHLRAB. — Die experimentelle Infektion weisser Mäuse mit murinen Fleckfiebersvirus. (Zbl. Bakt. Par. Originale, 1937, t. 140, p. 193).
- 83) RUIZ CASTANEDA. — Experimental pneumonie produced by typhus Rickettsia. (Amer. J. Path., 1939, t. 15, p. 467).
- 84) P. DURAND et H. SPARROW. — Inoculation pulmonaire des virus typhiques (C.R. Acad. Sciences, 1940, t. 210, p. 420).

- 85) P. DURAND, P. GIROUD et H. SPARROW. — Inoculation pulmonaire du virus pourpré (C.R. Acad. Sciences, 1940, t. 210, p. 751).
- 86) P. GIROUD. — La sensibilité cutanée locale vis-à-vis d'un virus typhique murin est inversement proportionnelle à la réceptivité générale de l'organisme (C.R. Soc. Biol., 1938, t. 128, p. 590).
- Variations de la virulence des organes et des cultures de virus typhique murin mise en évidence dans la peau (C.R. Soc. Biol., 1938, t. 127, p. 864).
- 87) P. GIROUD. — Variations du pouvoir infectant d'un virus de souris en fonction du régime (C.R. Soc. Biol., 1936, t. 123, p. 862).
- Comportement du virus du typhus historique de Tunis au cours de la carence et de la précarence C. (C.R. Soc. Biol., 1936, t. 121, p. 714).
 - Action de la carence C sur l'immunité acquise de cobayes infectés de typhus exanthématique (Bull. Soc. Path. exot., 1936, t. 29, n° 4).
- P. GIROUD et A. GIROUD. — Régimes insuffisamment vitaminés et microbes de sortie. Morbidité et mortalité en fonction du régime (C.R. Soc. Biol., 1938, t. 128, p. 606).
- 88) P. DURAND et P. GIROUD. — Essais de vaccination contre le typhus historique au moyen de Rickettsies tuées par le formol (souches pulmonaires) (Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1940, t. 29, n° 1).
- Le lapin inoculé par voie respiratoire avec les Rickettsies du typhus historique. Pouvoir antigène des suspensions (Ann. Inst. Pasteur, 1941, t. 66, p. 425).
- 89) P. DURAND et P. GIROUD. — Essais de vaccination contre le typhus historique au moyen de Rickettsies tuées par le formol (C.R. Acad. Sciences, 1940, t. 210, p. 493).
- 90) P. GIROUD et S. TANNENBAUM. — Le comportement du cobaye typhique exanthématique vis-à-vis de la réaction de Weil-Félix peut-il éclairer la pathogénie de cette réaction ? (Arch. Inst. Pasteur Tunis, 1937, t. 26, p. 671).
- Faits concernant la réaction de Weil-Félix (C.R. Soc. Biol., 1937, t. 125, p. 698).

- 91) PANTHIER. — Les anticorps des fièvres exanthématiques (Thèse, Paris, 1939).
- R. CASTANEDA. — Sur le mécanisme de l'immunité dans le typhus exanthématique (Bull. Off. int. Hyg. publ., 1937, t. 29, p. 730).
- 92) P. GIROUD. — Les anticorps des fièvres exanthématiques. Le test de séro-protection cutanée locale (Bull. Soc. Path. exot., 1938, t. 31, p. 245).
- Essai de mise en évidence des anticorps du typhus exanthématique par un test cutané (C.R. Soc. Biol., 1938, t. 127, p. 397).
- Les anticorps du typhus exanthématique et le test de séro-protection cutanée locale (Acta Conventus III de Trop. Mal. Morbis) (Cf. Paris Médical, 4 Juin 1938).
- 93) P. GIROUD. — Réaction provoquée par l'inoculation dermique du mélange virus typhique exanthématique et de sérum d'individu ayant reçu un antigène de ce groupe (C.R. Soc. Biol., 1938, t. 128, p. 249).
- 94) ROCHE. — Les Pneumonies expérimentales à Rickettsies (Thèse, Lyon, 1940).
- 95) J. ROYER. — L'immunisation contre le typhus exanthématique en Tunisie (Thèse, Nancy, 1942).
- 96) P. DURAND et P. GIROUD. — Essais de vaccination contre le virus pourpré au moyen de Rickettsies tuées par le formol (C.R. Acad. Sciences, 1940, t. 210, p. 753).
- Nouveaux résultats concernant les essais de vaccination contre la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses au moyen de Rickettsies formolées (C.R. Acad. Sciences, 1940, t. 211, p. 167).
- 97) P. GIROUD et R. PANTHIER. — Il est possible de cultiver et de conserver sur poumon de lapin une souche de typhus épidémique européen (C.R. Acad. Sciences, 1941, t. 213, p. 462).
- Adaptation au poumon du lapin des Rickettsies du typhus historique (Ann. Inst. Pasteur, à paraître).
- P. GIROUD et R. PANTHIER. — Il est possible d'adapter directement au poumon de souris une souche de typhus historique isolée et conservée sur cobaye (C.R. Acad. Sciences, 1941, t. 212, p. 61. — cf. Ann. Inst. Pasteur, 1942, t. 68, p. 137).

- 98) DONATIEN et LESTOQUARD. — Du cycle évolutif de quelques Rickettsies (C.R. Acad. Sciences, 20-VI-1938, t. 206).
- 99) P. GIROUD et R. PANTHIER. — Les Rickettsies des fièvres exanthématiques et leurs formes d'évolution (C. R. Acad. Sciences, 1941, t. 213, p. 45).
- L'évolution des Rickettsies des fièvres exanthématiques est fonction de leur végétabilité dans les tissus qu'elles parasitent (Bull. Soc. Path. exot. 1942, t. 35, n° 1).
 - Adaptation directe au poumon de souris d'une souche de typhus historique isolée et conservée sur cobaye. Comportement des Rickettsies au cours de cette expérimentation (Ann. Inst. Pasteur, 1942, t. 68, p. 137).
- 100) P. GIROUD et R. PANTHIER. — Essai pour la mise en évidence de la vitalité de divers microbes (C.R. Acad. Sciences, 1941, t. 212, p. 253).
- 101) P. GIROUD et R. PANTHIER. — Comportement du cobaye à l'inoculation de doses massives de Rickettsies du typhus historique issues de poumon de souris ou de poumon de lapin (Ann. Inst. Pasteur, 1942, t. 68, p. 95).
- 102) P. GIROUD et R. PANTHIER. — L'immunité provoquée par les Rickettsies tuées au formol comparée chez le cobaye à l'immunité provoquée par maladie grave (C.R. Acad. Sciences, 1942, t. 214, p. 241).
- 103) P. GIROUD. — Rickettsies et produits antigènes extraits du tissu où ont cultivé ces éléments. Intérêt de l'action simultanée de ces antigènes (Bull. Soc. Path. exot., 1942, t. 35, p. 199).
- 104) P. GIROUD et R. PANTHIER. — La gravité des infections exanthématiques varie expérimentalement suivant les modes de passage (passages continus ou discontinus aux dépens d'organes conservés à très basse température) (C.R. Soc. Biol. 1941, t. 135, p. 228).
- 105) DYER. — Le contrôle du typhus (Amer. J. Trop. Med., 1941, t. 21, p. 163).
- 106) P. GIROUD. — Réaction d'hypersensibilité à l'injection intradermique de Rickettsies tuées chez des souris ayant déjà été infectées (C.R. Soc. Biol., 1941, t. 135, p. 1296).

- Réactions d'immunité locale provoquées par des inoculations répétées de Rickettsies (Bull. Soc. Path. exot. 1939, t. 32, p. 251).
- Variations des réactions cutanées à la suite d'inoculations successives de Rickettsies du typhus murin (C.R. Soc. Biol., 1939, t. 130, p. 230).
- 107) P. DURAND, BÉGUET, HORRENBERGER et RENOUX. — Recherche du pouvoir neutralisant du sérum des vaccinés contre le typhus exanthématique (Bull. Acad.Méd. 1942, t. 126, p. 410).
- 108) R. MARTIN, VITTOZ, SUREAU et N. BOURCART. — Etude clinique du typhus exanthématique chez les sujets vaccinés par le vaccin de P. Durand et P. Giroud. Valeur prophylactique de ce vaccin (Bull. Acad. Méd., 3 Novembre 1942).

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	9
------------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE DE L'IMMUNISATION

I) IMMUNISATION PASSIVE	11
Sérum de convalescents	11
Sérums d'animaux	12
II) IMMUNISATION ACTIVE	13
<i>Vaccins vivants</i>	14
Méthode de Blanc	15
Méthode de Blanc et Baltazard	17
Méthode de Nicolle et Laigret	19
Méthode de Laigret et P. Durand	21
Vaccination par scarifications cutanées (Méthode de Laigret)	23
Méthode de Balteanu et Constantinesco	24
<i>Vaccins tués</i>	24
Méthode de Weigl	25
Méthode de Zinsser et R. Castañeda	27
Vaccins préparés par cultures de tissus	29
Vaccins obtenus par cultures sur œuf	32
Vaccins de culture combinée	33
III) SERO-VACCINATION	34
IV) COMMENTAIRES	35

DEUXIÈME PARTIE

VACCINATION CONTRE LES FIEVRES
EXANTHEMATIQUES PAR DEVELOPPEMENT
DES RICKETTSIES DANS LE POUMON

TITRE I

Pneumonies expérimentales à Rickettsies

A) <i>Historique de l'adaptation des virus exanthématiques aux poumons des divers rongeurs</i>	41
B) <i>Virulence des poumons</i>	44
Virulence des poumons mise en évidence au cours des passages	44
Virulence des poumons mise en évidence dans la peau	46
C) <i>Pouvoir antigène des suspensions formolées de poumon</i>	48
Essais chez l'animal	49
Essais sur l'homme	50
D) <i>Le test de séro-protection cutanée locale de P. Giroud</i>	50

TITRE II

Le vaccin contre le typhus exanthématique
préparé à l'aide de poumon de souris

Technique de préparation	54
Rendement pratique de la méthode	55
Réactions vaccinales	56
Application pratique de la méthode.....	57
Application possible de la méthode de P. Durand et P. Giroud à la vaccination contre les autres fièvres exanthématiques	58

TITRE III

Le vaccin contre le typhus exanthématique préparé à l'aide de poumon de lapin

A) Bases expérimentales	60
Adaptation au poumon du lapin des Rickettsies du typhus historique	62
Examen des lésions pulmonaires	65
Pouvoir pathogène du poumon de lapin	68
Pouvoir antigène d'une suspension de poumon de lapin	69
Pouvoir antigène des extraits du poumon infecté	73
B) Considérations techniques	78
Technique de préparation du vaccin	78
Danger des contaminations de laboratoire	84
Rendement de la méthode	85
Le test d'hypersensibilité cutanée	86
Réactions vaccinales	90
C) Garanties présentées par le vaccin à base de poumon de lapin	95
Contrôle microbiologique	95
Contrôle de stérilité bactérienne	96
Contrôle expérimental ; épreuves sur les animaux du laboratoire	96
Contrôle sérologique	97
Contrôle épidémiologique ; comportement des vac- cinés en foyer infecté	98
D) Adaptation possible de cette méthode de vaccination aux autres fièvres exanthématiques	108
CONCLUSIONS	111
BIBLIOGRAPHIE	113

